

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Departamento de Estomatología IV
(Profilaxis, Odontopediatría y Ortodoncia)



**Validación histológica *in vitro* de ICDAS-II y Micro-CT
para la detección de lesiones de caries proximales y
oclusales**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE MÁSTER
PRESENTADO POR

Julissa Amparo Dulanto Vargas

DIRECTORA
Gloria Saavedra Marbán

Madrid, 2015

*Donde brilla el tibio sol con un nuevo fulgor dorando las arenas,
donde el aire es limpio aún bajo la suave luz de las estrellas, donde
el fuego se hace amor el río es hablador y el monte es selva, hoy
encontré un lugar para los dos en esa nueva tierra. América,...es
América. Todo un inmenso jardín eso es América.
Cuando Dios hizo el edén pensó en América.*

Dedicado a mis padres

Julio Dulanto Navidad y Betty Vargas Agusti,

quienes gustan de esta canción.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a mi directora de tesis, Dra. Gloria Saavedra Marbán, gracias por la confianza y apoyo mostrado, incluso desde Perú, mi país de origen. Realmente, me he sentido a gusto poder contar con su orientación en todo momento.

También, quisiera agradecer a la Dra. M^a Rosa Mourelle Martínez, porque de uno u otro modo, sus acciones han repercutido en el trabajo de campo realizado en esta investigación.

Al Departamento de Odontología Conservadora de la Facultad de Odontología y al Departamento de Radiología de la Facultad de Medicina de la UCM, por haber brindado los ambientes de laboratorio y la ayuda necesaria para el desarrollo del trabajo.

A mis padres Julio y Betty, en quienes solo puedo expresar mi eterno agradecimiento. Mil veces gracias por confiar en mí, perdonar mis errores y mostrarme su apoyo incondicional.

A mis hermanos Marcia, Carla, Galo, Vale y mis sobrinos; de los cuales solo tengo gratos recuerdos. Agradecerles porque sus debates, juegos y peculiaridades me han hecho despertar un mundo de curiosidades que quisiera seguir investigando.

A mis amigos peruanos sanmarquinos Fanny, Iván, Juliana, Marco, Patty y Santos; y mis amigos huachanos Gianinna, Jessica, Julissa, Thaís, Víctor e Ysabel. Gracias por regalarme parte de sus vidas.

En especial a Maynor Carranza, mi principal fortaleza hoy en día. Siempre te digo que representas día tras día, un nuevo comienzo y nunca un final.

Finalmente, al Programa Nacional de Becas del Gobierno del Perú, representantes y personal administrativo, quienes están apostando porque la investigación brinde sus frutos apoyando nuestra labor académica.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	01
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	04
2.1.	Noción de caries: cuestionamientos históricos	05
2.2.	Paradigma actual: Factores determinantes e hipótesis ecológica	07
2.3.	Biopelícula dental: Rol en el proceso de caries dental	08
2.4.	Desarrollo de la biopelícula dental: Colonización y mecanismos	09
2.5.	Rol de factores de virulencia: Dieta, microorganismos y pH salival	12
2.6.	Interacciones químicas: Desmineralización dental	14
2.7.	Patología de caries dental: Progresión hacia la lesión	16
2.8.	Criterios diagnósticos: Perspectiva en caries dental	19
2.8.1.	Evaluación clínica: Cavitación y actividad	20
2.8.2.	Precisión diagnóstica: Criterios para validación	21
2.8.3.	Validación caries dental: Técnicas de laboratorio	22
2.8.4.	Métodos diagnósticos: Fortaleza del visual-táctil	23
2.8.5.	International Caries Detection and Assessment System: ICDAS	24
2.8.6.	ICDAS-II: Impacto clínico, epidemiológico y educacional	26
3.	HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN	28
4.	OBJETIVOS	30
5.	MATERIAL Y MÉTODO	32
5.1.	Diseño del estudio	37
5.2.	Muestra	37
5.3.	Definición de variables	38
5.4.	Materiales	40
5.5.	Método	41
5.6.	Recogida de datos, manejo y análisis	44
6.	RESULTADOS	46
7.	DISCUSIÓN	58
8.	CONCLUSIONES	65
9.	BIBLIOGRAFÍA	67
	ANEXOS	72

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Al siglo XXI, los conocimientos de caries están más cercanos a principios basados en evidencia. Nuevos conceptos siguen la búsqueda de proporcionar grandes beneficios para la salud dental. Ello se ha impulsado por la crítica a teorías tradicionales que resultan en nuevos enfoques. Se puede decir que aunque la concepción de caries y lo relacionado a ella, tiene una historia compleja, está dando frutos. En 10 años, el aporte científico, sobre todo en el área de ciencias básicas, cambió el paradigma de caries dental. Especies bacterianas específicas, antes causa necesaria de la enfermedad, hoy se enfocan de distinta manera. El tema no es la presencia bacteriana, sino el disturbio que obliga a un todo bacteriano – biopelícula dental – a “equilibrarse” y cambiar su expresión genética. En ese sentido diversos grupos de microorganismos están comprometidos, incluso el género no mutans. Lo demás ya lo conocemos, predominio de especies acidógenas y acidúricas, ataque ácido y pérdida mineral de tejidos dentales por debajo de un pH de 5,5.

Describir el disturbio de caries como proceso bioquímico producto de fermentación de azúcares no tiene controversia, tampoco describir su patología. Los avances tecnológicos permiten observar los cambios químicos producidos y tejidos histológicos dañados. Si dificulta señalar los potenciadores exactos. Al paso del tiempo, mayor es la complejidad del riesgo de caries. El órgano dental, como la mayoría de estructuras biológicas, tiene múltiples factores asociados. Hoy es común adicionar a los genéticos y ambientales, los psicobiológicos. Esto explica cómo el comportamiento humano se relaciona con la aparición de enfermedad de caries, y también de la forma de evitarlo. Esta secuencia compleja de causas engloba un proceso dinámico en los que no hay un límite preciso entre salud y enfermedad, pero si es posible evidenciar niveles de gravedad expresadas en signos de enfermedad: lesión de caries. No obstante de distinguir entre sano-enfermo, es posible adoptar medidas preventivas. Idealmente un enfoque preventivo es primario cuyo objetivo es evitar la enfermedad de caries pero no

siempre es posible asegurarlo.

Ante niveles más graves de lesiones de caries, la odontología preventiva busca detener y revertir el proceso de caries. Ello funcionará con un diagnóstico de caries que aborde todos los ángulos, en la suma de los profesionales por encontrar todos los signos y síntomas pasados o presentes de enfermedad. Por tanto interesan herramientas claves como historia del paciente, evaluación de riesgo y una correcta evaluación clínica. La detección de lesiones de caries como parte de la evaluación clínica y el diagnóstico, aunque parte de la presencia o ausencia de signo de enfermedad o lesión de caries, tiene como enfoque detectar lesiones desde su mínima expresión. Con ello el abordaje será mínimamente invasivo y con el menor costo biológico para el órgano dental.

La inspección visual es el método más tradicional pero controvertido de los sistemas de detección. Diversas contradicciones en evaluaciones dentales, le dan de información al paciente. Se impulsa un uso aliado a evaluación táctil y radiografía dental. Limitaciones de utilidad y exactitud se han encontrado, sumado a probabilidad de daño al tejido dental y radiación proyectada, respectivamente. Se ha impulsado como objetivo encontrar nuevos métodos, especialmente, en los últimos 10 años. Sólo la evidencia científica puede respaldar su exactitud, utilidad clínica y beneficio al paciente. Se ha dilucidado nuevas formas de detectar ya sea con nuevas tecnologías o reformas a los métodos tradicionales. La tecnología supone el uso de equipamiento a un coste superior, mientras que la reforma a un método tradicional de inspección visual no lo requiere.

Cambios generados en los criterios de valoración de profundidad y actividad de caries se han analizado en diversos métodos, cuyas contribuciones y revisión de la literatura han dado como resultado la creación de ICDAS-II. Este sistema de inspección visual se anuncia como referente para detectar y valorar lesiones de caries. Mientras el método tenga más exactitud para detectar, particularmente, en lesiones iniciales de esmalte, apoyará indirectamente la terapéutica preventiva. Estudios de validación se realizan con un referente, para caries es usual el *gold* estándar histológico. Esta valoración supone el daño y pérdida del tejido dental y posible variación según el área a observar. Pocos estudios analizan la técnica de tomografía computarizada como sustituto de referencia histológica basados en la ampliación del área de observación y no daño del tejido.

Conforme a las recomendaciones realizadas en una revisión sistemática de métodos visuales, se debe analizar la valoración de los estudios realizados *in vitro* y ajustar la metodología empleada. No obstante de las limitaciones del estudio *in vitro*, su uso en cariología evalúa la validez de un método, incluso los confronta con otros. Limitados estudios encontramos al comparar la validez del sistema visual y el análisis tomográfico. También permite confrontar las pruebas frente a una valoración histológica que *in vivo* no se podría realizar. Dado que es un foco de atención, encontrar un *gold* estándar no invasivo con resultados comparables al histológico, los avances de algunos sus métodos permitirían ampliar el uso de pruebas diagnósticas de lesiones de caries.

Los ajustes metodológicos de las pruebas diagnósticas en caries se analizan en base a los criterios de los estudios realizados. La muestra debe incluir distintos tipos de dientes y superficies porque podría afectar a la validez externa. Y si no se diferencia superficies oclusales y proximales generaría pérdida de resultados. La muestra no debe incluir dientes con diagnóstico evidente, sanos o enfermos, para evitar el sesgo de casos-control y una prevalencia de enfermedad extrema alta-baja. Es posible un menor sesgo con una prevalencia menor a 30% que no afectaría los valores predictivos positivos o negativos (fiabilidad). Un análisis *a priori* referidas a sensibilidad, especificidad y área bajo la curva no tiene utilidad clínica, aunque sí analizaría valores predictivos. Y ante una amenaza de prevalencia extrema, la aplicación del Teorema de *Bayes* estimará valores predictivos post prueba brindando datos de uso clínico.

En base a lo señalado, el objetivo de esta investigación es comparar la validez *in vitro* del sistema de clasificación visual (ICDAS-II) y Microtomografía Computarizada (Micro-CT) para la detección de lesiones de caries oclusales y proximales usando como *gold* estándar el examen histológico.

ANTECEDENTES

2. ANTECEDENTES

Noción de caries: cuestionamientos históricos

La numerosa interpretación de la enfermedad de caries dental recuerda la histórica representación de lo que a la ciencia se da, en ese contexto, y en afán de justificar los cambios de entendimientos más que de conceptos, el actual paradigma etiológico de caries dental no es sino el resultado de lo que ya Tomás Kuhn explicaba en su obra “The Structure of Scientific Revolutions” en 1962. (1)

Al margen de llegar a la comprensión exacta de la concepción Kuhniana, el debate generado por su obra radica en el impacto en diferentes áreas – incluso en ciencias de la salud – sobre la crítica generada en torno a los principios de ciencia desde su dicotomía observable vs. teórico (no observable), acumulación de ideas; y su concepción como proceso en lugar del resultado del mismo per se. (2)

Se fundamenta la existencia de amplia literatura sobre la concepción de caries y cómo ha generado un cambio de paradigma. Las teorías sobre caries dental, hasta antes del siglo XX, han cambiado sus enfoques. Estos cambios se han producido en base a cuatro aspectos concretos: a. Etiología endógena vs. exógena, b. Modelo unicausal vs. multifactorial, c. Actividad de naturaleza progresiva – dinámica y d) Era extractiva – restauradora – preventiva. (3)

Sobre el primer aspecto, es evidente señalar el cambio de enfoque de naturaleza etiológica endógena a naturaleza exógena. El fundamento exógeno sostenía el inicio de caries en el órgano pulpar y su posterior manifestación en esmalte y dentina. Únicamente, hasta el siglo XX, con la última propuesta teórica exógena (Sacarosa-quelación), fue dejada de lado al comprobar que los dientes desprovistos de pulpa también eran susceptibles de caries dental. (4)

En el segundo aspecto, se analiza al modelo en sí y la propuesta interna. Lo unicausal tuvo amplia expectativa, al considerar la “búsqueda del agente infeccioso responsable de una enfermedad” (Postulado de Kock). Ante ello, lógicamente, los estudios se volcaron en identificar la causa única. Y aunque Miller fue inespecífico en señalar un microorganismo específico, si sentó las bases para estudiar a los *Lactobacillus* y, luego, los *Streptococcus*. (5)

Posterior a Miller (1890), el impacto teórico fue altísimo, no así lo clínico. Se cuestionaba que aún en presencia de microorganismos, no se desarrollara caries dental (Experimento in vitro de Orland en 1950). El desfase específico se producía en identificar la patogenia cariosa propiamente dicha. Por ello, ayudó que otras disciplinas, además de la Microbiología, se incluyan en la línea de estudio: Bioquímica y Ciencias del Comportamiento. (6)

Ante dudas en la patogenia y el apoyo de las ciencias básicas, surgieron nuevos señalamientos sobre el inicio progresivo de caries. Surgió así, el concepto de placa dental (William en 1897) y datos sobre su permeabilidad (Stephan en 1940), asimismo, el rol de carbohidratos en la dieta (Shaw en 1954). Como resultado ya no se podía hablar de uno, sino de múltiples factores etiológicos (Keyes y col. en 1960). (7)

A pesar de los cuestionamientos sobre la formación rápida e irreversible de caries dental (Tercer aspecto señalado) y la mención simplificada de los factores etiológicos primarios de la Tríada de Keyes con algunas modificaciones, fue aceptada como tal durante todo el siglo XX. En 2001, en que se diferenció la causalidad entre necesaria y suficiente (Rothman y Greenland en 1995); el postulado Keyes se ha visto superado por el rol modulador de otros factores que encuadra a la caries como proceso dinámico. (4)

Al paso de las modificaciones teóricas con sus nuevos descubrimientos, el tratamiento de la enfermedad cariosa también ha modificado su enfoque. Así, la historia de la odontología ha optimizado sus recursos terapéuticos pasando primero por la era extractiva hasta el siglo XVIII cuyo objetivo aplacaba el dolor. Luego, la era restaurativa que habilitó cada vez a procedimientos más estéticos con ayuda de nuevas tecnologías en materiales dentales. Hoy, se busca consolidar la era preventiva. (7)

La prevención implica medidas que evitan la ocurrencia de aparición de una enfermedad, bien interrumpen o aminoran su progreso. El concepto se fortalece de evidencia científica, al demostrar que las enfermedades orales son prevenibles. Y son prevenibles porque toda enfermedad sigue una historia natural, es decir, un continuo proceso en cuyo caso no es posible establecer límites precisos entre salud-enfermedad. (8)

A 120 años de investigación sobre factores microbiológicos y dietéticos, todavía no es claro el rol exclusivo de *Streptococcus mutans* o de la sacarosa como conductores de caries dental. Si es más prometedor que el enfoque preventivo hacia el consumo de alimentos no fermentables y terapias de fluorización, generen menor adherencia microbiana, un mayor equilibrio álcali salival y mayor flujo salival. Por tanto, nuevos paradigmas son importantes para el avance del conocimiento etiopatogénico cariológico preciso por parte de la comunidad odontológica. (9)

Paradigma actual: Factores determinantes e hipótesis ecológica

La historia de caries dental, con aciertos y cuestionamientos, y ayuda del método científico (Lógica de Pooper) (10), han generado un cambio de paradigma iniciada por Fitzgerald y Keyes (4) y mejorada por Fejerskov (11). Hoy, caries dental se define como *enfermedad infecciosa no clásica* basada en la hipótesis ecológica dejando de lado la hipótesis específica, para quien únicamente especies acidógenas / acidúricas se asocian a caries (12). Por cuestiones de precisión, tampoco cabe una hipótesis no específica que dejaba posibilidad al total de microflora oral. (13)

La hipótesis ecológica determina la enfermedad cariosa producto de un disturbio de un todo microbiano; pero con predominio de especies (14), que en su búsqueda por la adaptación dinámica de organismos entre sí (simbiosis) (15), generan un cambio de dinamismo de respuesta mutualista a respuesta parasitaria (amphibiosis) (16). La extensión a esta teoría señala la acidificación del medio bucal como determinante principal para cambios en expresiones del fenotipo y genotipo de la microflora. (17)

Además, es – multifactorial – por cuanto existe un amplio grupo de factores genéticos, ambientales y psicobiológicos que interactúan al tiempo de forma – compleja – directa o

indirectamente en la interacción biofilm-diente formando un proceso de naturaleza – dinámica – donde ocurre el desbalance continuo de la estructura mineral / orgánica provocando su disolución química observadas en síntomas y signos detectables como la lesión de caries (11,18). Esta secuencia causas → proceso → signos y síntomas, comprende una filosofía esencialista, aunque hoy se cree en el concepto nominalista donde la enfermedad en sí es el proceso en sí (causas → signos y síntomas). (19)

Biopelícula dental: Rol en el proceso de caries dental

En la naturaleza, la mayoría de microorganismos crecen sobre superficies en forma de biopelícula (biofilm) y están asociados con el 60-70% de enfermedades infecciosas. Las condiciones de humedad, interacción de nutrientes y equilibrio del pH salival (6,75 a 7,25) de la cavidad oral, son características óptimas para el desarrollo de comunidades polimicrobianas en estructuras de biopelículas dentales sobre superficies dentales. (20,21)

Hoy, se señala 700 especies habitantes de la cavidad oral quienes forman complejas asociaciones y juegan un rol indispensable para el inicio de diversas patologías orales, como caries y periodontitis. Su descubrimiento se atribuye a Van Leeuwenhoek en el siglo XVII, al observar microorganismos adheridos sobre superficies dentales ayudado de un microscopio de luz. (22,23)

El biofilm o película dental representa una comunidad microbiana sésil, inmersa en un medio líquido, caracterizada por células que están adheridas irreversiblemente a un substrato o superficie, o unas con otras, encerradas en una matriz extracelular de sustancias poliméricas producidas por ellas mismas, y muestran un fenotipo alterado en relación con la tasa de multiplicación celular o la expresión de sus genes. Los microorganismos ocupan un lugar y función específica en dicha estructura. (24,25)

Hay una transmisión temprana de patógenos cariogénicos en la cavidad oral de los bebés al año de edad y con predominio a *Streptococcus mutans* (26). Las causas atribuidas son factores postnatales como alimentación prolongada de biberón, degustación de alimentos de las madres y prácticas de higiene oral inadecuadas (27). A los 18 meses, edad de erupción de los molares primarios, se puede encontrar en el 21%

ANTECEDENTES

de los niños la presencia

de *S. mutans* (28). Esta transmisión vertical (madre-hijo) puede darse incluso antes del nacimiento con presencia de una microbiota oral más diversa en aquellos nacidos por vía vaginal que por cesárea (29), y con un impacto tardío a adquirir *S. mutans* hasta un año después que los de parto vaginal (± 17 meses de edad) (30). También, la lactancia materna sugiere supresión de demás especies por lactobacillus indígenas a la leche materna, algo que no se presenta en los alimentados con fórmulas (31). Por estos factores perturbadores natales, la perspectiva actual es el logro de una microbiota oral sana enfocado en el desarrollo de tolerancia fetal hacia el microbioma de la madre durante el embarazo. (32)

Aún con la fuente adquirida de microbiota, según la teoría ecológica son los factores de perturbación los impulsadores del desbalance. Lo normal es que la flora residente contribuya a la salud (18). Ante un escenario no homogéneo de microbiota oral, su distribución en mucosa y diente tiene predominio de especies por hábitats como la lengua (mayor reservorio microbiano), y sitios específicos para especies (entre 20 y 30) debido a propiedades biológicas y físicas (33). En cuanto se perturba la homeostásis por factores en la defensa del huésped (\downarrow flujo salival, etc.) y composición dietética (mayor consumo de carbohidratos fermentables), hay una mayor producción de ácidos. Se expone a un pH bajo, con predominio de especies acidogénicas y acidúricas. Inicialmente, especies no mutans actuarían a ritmo más lento creando el ambiente ideal acidogénico, inhibiendo así especies no ácido tolerantes, para el predominio de *S. mutans* y *Lactobacillus* que a niveles críticos por debajo de 5,5 disolverían la estructura dental. (34,35)

Desarrollo de la biopelícula dental: colonización y mecanismos

La formación de la biopelícula comprende la formación de película, colonización primaria, secundaria y terciaria. La colonización primaria comprende la formación y adhesión a la película adquirida sobre la superficie dental. La formación se da tras la post-erupción dental, únicamente se elimina con profilaxis profesional, formándose en no más de 2 horas de limpiar una superficie dental. Esta cubierta tiene componentes salivales y bacterianos adsorbidos selectivamente bajo mecanismos electrostáticos a la hidroxiapatita (HA). Su grosor varía de 0,01-1 μm . Adquiere mayor

espesor cuando sus componentes interactúan para insolubilizarse, favorecidos por factores de pérdida de ácido siálico, $\uparrow[\text{Ca}]$, $\downarrow[\text{PO}_3]$, y $\downarrow\text{pH}$. (20,36)

Por un lado, la película dental tiene acción protectora por la acción proteica que le brinda la saliva — como parte de sus funciones — las que generan: remineralización (estaterina y proteína rica en prolinas), inhibición a la desmineralización (mucina), capacidad antibacteriana (peroxidas y lisozima) e inmunitaria específica (IgA) (37). Pero también, son substrato y zonas de reconocimiento para la adherencia de microorganismos futuros en la colonización secundaria. Se señala que la α -amilasa permite fijar al *Streptococcus sanguinis*. (38)

La colonización primaria de inicio es reversible, y se da sobre la ya formada película dental, mediante fuerzas de Van der Waals, no completada por acción inhibitoria iónica salival hacia la carga electronegativa bacteriana. La permeabilidad de la película dental cambia por perturbaciones de azúcares, higiene y $\downarrow\text{pH}$. En corto tiempo, la interacción es fuerte, lo que favorece a tipos microbianos *S. mutans* y *lactobacillus*, principalmente en zonas de fisuras oclusales, generando la adherencia irreversible. (23)

Se reportan entre 20 y 30 especies colonizadoras cariogénicas primarias de las cuales Streptococcus (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*) están en mayor proporción (80%) que respecto a los Actinomyces (*A. naeslundii* y *A. viscosus*). Se dice que el *S. sanguinis* coloniza primero en niños y no es patógeno, mientras que el *S. mutans* representa el patógeno etiológico por excelencia (39). Y aunque esto es bastante conocido, genera controversia, como también, la inhibición mutua entre *S. mutans* y *S. sanguinis*, esta última es más eficiente a la adhesión. (40)

En la fase irreversible, interesan otras fuerzas como mecanismos de adherencia microbiana a la película dental. Este fenómeno lo alcanzan pocos microorganismos mediados por unión específica de moléculas de superficie o adhesinas y de la película adquirida o receptor. Los mecanismos pueden ser interrelaciones de tipo: **electrostática** (ión calcio une grupos electronegativos de ácidos lipoteicoicos bacterianos y la película dental. Ej. *S. sanguinis*), **covalente** (polisacárido bacteriano extracelular reconocido por glucosiltransferasas que permite unión bacteriana directa o en interacción con glucanos insolubles tipo mutanos. Ej. *S. mutans*), **hidrófoba** (péptidos contenidos en fimbrias o

superficies bacterianas tipo lectinas se unen a residuos de porción glucosídica de la película. Ej. Residuos de galactosa para *Streptococcus mutans* y residuos de ácido siálico para *Streptococcus sanguinis*), **puentes de hidrógeno** (grupos hidroxilo de polisacáridos bacterianos se unen a grupos carboxilo de proteínas de la película. Ej. PRP para *Actinomyces viscosus*) y atrape físico (Ej. *Streptococcus* en fosas y fisuras). (12,36)

La adherencia previa es necesaria para el desarrollo del biofilm, hecho que requiere energía. De entre todos los azúcares, la sacarosa (al 10%) genera la mayor síntesis de exopolisacáridos (poliscáridos extracelulares) donde microorganismos segregan exoenzimas llamadas glucosiltransferasas (Gtf) tipo GtfB en *Streptococcus mutans* y GtfI en *Streptococcus sobrinus* predominante en enlaces glucosídicos α 1,3 que transforman la sacarosa en glucanos insolubles tipo mutanos, quien favorece la unión de adhesinas (polipéptidos tipo Ag I y II en *Streptococcus mutans*), estimulando la adherencia y coagregación bacteriana a la superficie dental. (41)

Los GtfB / GtfC de *Streptococcus mutans* y GtfSi en *Streptococcus sobrinus* intervienen en la formación estructural de la biopelícula. Otros Gtf de *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus salivarius* y un complejo Gtf I y II para parasanguinis también contribuyen en la adhesión y estructura de la biopelícula, este último para síntesis de glicoproteínas tipo PRP (42,43). Hasta aquí los glucanos insolubles representan entre el 10% a 20% de la composición de biopelícula. (44)

Adheridos los microorganismos a la película dental, se producen interacciones bacterianas (Quorum sensing) entre adhesinas y receptor (coagregación / coadhesión), que aumentan su grosor y complejidad mediante mecanismos de coadhesión intraespecífica o genérica, fase denominada como **colonización secundaria** (45). Mientras la coagregación intraespecífica puede darse por constituyentes salivales (*Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis* y *Actinomyces naeslundii*) y a través de polisacáridos extracelulares o mutanos (*Streptococcus mutans* y *Actinomyces naeslundii*), la coagregación genérica se da por constituyentes de las superficies o fimbrias de diferentes géneros bacterianos (*Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus*

ANTECEDENTES

gordonii, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus mutans*). Progresivamente, van cambiando especies aerobias por anaerobias facultativas en periodos iniciales. (12,23)

En la colonización terciaria ocurre la maduración de la biopelícula, fase que inicia a las 48 horas y es más compleja en estructura que en número. La selección hacia otras especies se favorece del medio ácido creado por cocos grampositivos de la fase secundaria. Así, especies activas de esta fase son *Veillonella* y *Lactobacillus* (46), quienes en condiciones anaerobias captan ATP al metabolizar hidratos de carbono fermentados por glicólisis, los productos son ácidos orgánicos, que al difundir por la matriz disminuye el pH salival produciendo desmineralización de cristales de hidroxiapatita, disolución del esmalte y ruptura de tejido calcificado. (47)

La producción de ácidos favorecida por adherencia previa de Gtf, también es compensada en la selección bacteriana por mecanismos de aglutinación generada por glicoproteínas (PRP, α -amilasas, lisozimas, histatinas) (48). Hasta aquí, los polímeros sintetizados de la sacarosa son glucanos solubles desdoblados por Gtfs (GtfC y GtfD en *S. mutans*; GtfU, GtfT, GtfS en *S. sobrinus* de enlaces glucosídicos α 1,6) liberando polisacáridos intracelulares tipo glucanos. Estos son catabolizados vía glucolítica formando ácido láctico como producto final. Al igual que el ácido fórmico, acético, propiónico y succínico (49). Si bien la glucosa soluble genera la mayor energía, los fructanos son polímeros de almacenamiento energético extra sintetizados por fructosiltransferasas. (50)

Con lo señalado, los factores de virulencia claves para la formación de lesiones de caries dental son la absorción de hidratos de carbono, la generación de ácidos y la tolerancia de pH bajo para el proceso de formación de caries. (51)

Rol de factores de virulencia: dieta, microorganismos y pH salival

Según un estudio de modelamiento de desmineralización dentaria se reconoce lo siguiente: a) La adsorción de hidratos de carbono suele ser más dañina si son consumidos en corto tiempo, que mismas cantidades con largos periodos. Incluso llega a igualar el espesor formado de placa dental (1000 μ m) comparado con una mala higiene oral. b) La generación de ácidos provoca mayor desmineralización en una placa dental engrosada. Ello debido a condiciones de anaerobiosis susceptibles a formar

ácidos más fuertes. c) Algunos microorganismos, como *Veillonella*, muestra un factor protector, al consumir ácido láctico y convertirlo a ácidos más débiles. (52)

Asimismo, un pH de la biopelícula disminuido por aumento de consumo de carbohidratos y disminución del aclaramiento salival produce pérdida neta de minerales (49). Provocado un ambiente ácido, bacterias acidógenicas como *Streptococcus mutans* y otras bacterias acidúricas aumentan y desarrollan la lesión, sin embargo, su accionar no tiene un papel exclusivo para dicha formación, por cuanto, en ausencia de estas bacterias, otros microorganismos *Streptococcus* no mutans y *Actinomyces*, pueden ser iniciadores de caries. (53)

El patrón de consumo de los alimentos virulento para formación de caries dental está presente cuando: a) La consistencia física de los alimentos es adhesiva o “pegajosa” debido a la mayor retención en boca. b) Secuencia de consumo entre merienda de almidón refuerza el poder cariogénico del alimento. c) La hiposalivación relaciona a la edad, condición médica (Irradiación de Cabeza y Cuello, Síndrome de Sjögren), depresión, trastorno alimentario, demencia y desnutrición puede disminuir la tasa de eliminación de azúcares. (54)

El riesgo de caries aumenta cuando existen niveles inferiores de anticuerpos IgA relacionado a la baja reacción del sistema inmune contra exoenzimas tipo Gtf que intervienen en la unión glucano y formación estructural de la biopelícula dental. Este ambiente influye en el grado de reacción bacteriano hacia una mayor formación de caries. Un estudio realizado encontró que en grupos con caries activa, se activaron 3 epítomos de IgA, mientras en grupos sin caries hasta 7 epítomos. (55)

La genética, al igual que en otras enfermedades, tiene un factor clave en la virulencia de caries. Representa el 65% de su variabilidad, sobre todo, de interacciones de genes según sexo en ambas denticiones. Un estudio sobre caries dental en dentición primaria, señala que la expresión de genes es mayor en varones que mujeres. Mientras que en dentición permanente, diferentes genes pueden tener un rol importante en ambos sexos (56). Por último, los procesos psicobiológicos (conocimientos, educación, actitud, conducta) y situación socioeconómicos están relacionadas directa o indirectamente en el desarrollo de caries dental (57). Algunas predicciones en niños, señalan que patrones de

ANTECEDENTES

comportamiento contribuyen en aumentar el riesgo de caries en 2,4 veces ante malos temperamentos y 3 veces en situaciones de estrés en el hogar. (58)

Interacciones químicas: Desmineralización dental

El esmalte es un tejido acelular con 80-90% de componentes minerales tipo cristales de fosfato cálcico $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 12% de agua y 3% de material orgánico tipo proteínas y lípidos. El principal mineral tiene estructura de cristales de hidroxiapatita (1 mm largo x 50 nm ancho x 25 nm espesor) altamente organizados para componer prismas (4 μm Ø) que van desde la unión amelodentinaria al exterior. Su orientación varía en la periferia del prisma formando más espacio intercristalino (11% de agua y 2% material orgánico). Este espacio sirve de intercambio de moléculas como ácido láctico y peróxido de hidrógeno, iones hidrógeno y calcio. Como la distribución de componentes no son uniformes, hay mayor grosor de cristales en cúspides (2,5 mm), adelgazando hacia lados cervicales, esto va en relación a mayor y menor módulo elástico y dureza, respectivamente. (59,60)

Siendo hidroxiapatita el componente mayoritario del tejido de esmalte, aporta en gran medida propiedades: densidad (2,95g/cm³), translúcido (refleja el amarillo dentinario), índice refractario (1,33) y dureza (370 KNH). Sin embargo, al existir sustituciones de sus elementos, disminuye la resistencia de su estructura cuando iones de calcio son reemplazados por Na, Mg, Zn o iones fosfato por carbonato (1 de 10). Mientras que aumenta la resistencia del reemplazo de iones hidroxilo por fluoruro. (60,61)

Cualquier mineral es susceptible a solubilizarse en agua a cualquier temperatura. El agua provee iones que reducen las fuerzas de atracción y oponen cargas iónicas. La energía del agua supera la fuerza que sostiene la red de hidroxiapatita. La disolución de hidroxiapatita tiene como productos 5 iones calcio, 3 iones fosfato y 1 ión hidroxilo $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}) \rightleftharpoons 5\text{Ca}^{2+} + 3\text{PO}_4^{3-} + \text{OH}^-]$. Para reconocer un medio saturado, se aplica la teoría de la conservación de las masas, en el que la velocidad de reacción es proporcional al producto de sus masas (22). Por tanto, el grado de saturación respecto a la hidroxiapatita (GS_{HA}) dependerá del producto de la actividad iónica de hidroxiapatita en relación a su constante de solubilidad (K_{HA}): $\text{KS}_{\text{HA}} = [(\text{Ca}^{2+})^5 (\text{OH}^-) (\text{PO}_4^{3-})^3 / \text{K}_{\text{HA}}]^{1/9}$. Valores de $\text{GS}_{\text{HA}} < 1$ indican soluciones sub-saturadas respecto al HA con riesgo a disolución, mientras que $\text{GS}_{\text{HA}} > 1$ indican sobresaturación con riesgo a precipitación. (62,63)

En condiciones de pH bajo, la solubilidad de hidroxiapatita y otros fosfatos de calcio es afectada. Se combinan iones H^+ con PO_4^{3-} y OH^- para formar iones HPO_4^{2-} (Fosfato de hidrógeno) y H_2O (Agua), respectivamente. Por debajo de un pH crítico hay más potencial para disolver el esmalte. En el esmalte se ha fijado entre 4,5 y 5,5. En teoría, los cambios sobre la concentración de calcio son 20 veces más potentes que los del fosfato, para inhibir la disolución al aumentar la saturación del medio (62,64). La lesión inicial se caracteriza por pérdida del mineral superficial, conservando aún la capa envolvente (mancha blanca). Esta lesión subsuperficial resultaría de la alternancia de periodos de desmineralización (ataque ácido) y de remineralización (periodo de reposo). (65)

A mayor desmineralización ácida, se presenta ruptura proteolítica de la estructura del esmalte. Aparecerán fisuras en la superficie y posterior microcavitación observable clínicamente. Luego, la dentina – al perder la protección mecánica y química del esmalte – se desmineraliza por ácido láctico en caries dentinaria activa (88%) y ácido acético y propiónico en caries dentinaria detenida (64% y 18,2%; respectivamente) (66). Enzimas pertenecientes a la familia de endopeptidasas como metaloproteinasas de matriz (especialmente MPM-2) y captasinas de cisteína (especialmente Captasina B) participan en la degradación del componente mineral dentinario (cristales de hidroxiapatita) y de la matriz extracelular orgánica (90% de colágeno tipo I y 10% de proteínas no colágenas como proteoglicanos, fosfolípidos, y enzimas). Las enzimas, además de formar parte del componente mineral y fluido de la dentina (formada por odontoblastos), se encuentran en la saliva (producto del fluido crevicular y glándulas salivales). También, forman parte mediadora del mecanismo de patogénesis de caries de las proteasas bacterianas cuando son activadas. Se cree que las MPM intervienen más en el inicio de la lesión dentinaria, mientras que la captasina en la aceleración de la lesión. Situación similar al de las caries detenidas se muestra en caries adyacentes a restauraciones a la interfaz de restauraciones (CARS). (67,68)

Por otro lado, la desmineralización de cemento de la raíz dentaria se produce de forma similar a la del esmalte – por difusión – aunque con una mayor solubilidad de su componente mineral. El factor de mayor impacto aquí es producto de la actividad iónica de hidroxiapatita y pH crítico entre 5,22 y 5,66 ante su exposición. (69)

Patología de caries dental: Progresión hacia la lesión

Con el proceso desmineralización ácida se produce la lesión de caries. Este inicio en esmalte se caracteriza por pérdida mineral del subsuelo y conservación de la capa superficial (63). Conforme la cascada de eventos, la dureza ↓ y la porosidad ↑ formando defectos en la red de nano-cristales con las primeras disoluciones, sobre todo, en el plano central conocido como línea oscura central o línea de Dark, espacio entre 1 a 1,5 nm atribuido a susceptibilidad de caries por defectos estructurales de elevada [Ca] que formaría la existencia de un interfaz de hidroxiapatita- fosfato octocálcico (HA-FO), débil de energía y suave de dureza. (70,71)

Se interpretó la estructura histológica de lesión de esmalte en base a la propiedad óptica de birrefringencia (BI) de la zona mineral / no mineral (72), definiendo cuatro estadios: a. Capa superficial (CS): capa casi intacta, grosor 20-100 μm, porosidad y pérdida mineral 5%, única con BI negativa. b. Cuerpo de la lesión (CL): zona amplia, núcleo central de la lesión, porosidad 25% en zona central y 5% en periferia, pérdida mineral 18-50%, cubierta por CS. c. Zona oscura (ZO): grosor 20-30 μm, porosidad 2-4%, pérdida mineral 5-8%, representativa en 90-95% de lesiones y adyacente a ZT. d. Zona translúcida (ZT): grosor de 40 μm, porosidad 1%, pérdida mineral del 1-1,5%, representativa en el 50% de las lesiones formando el frente de avance (73). Hoy, se conoce que la CS y CL representan áreas de desmineralización; mientras ZO y ZT, áreas de remineralización. (74)

En base a esta clasificación, se estratificaron tipos de lesiones mostrando que ante un pH 4,5 – en periodos cortos – se observan la capa superficial y el cuerpo de la lesión (Lesión tipo I) y ante acidez más intensa, la capa superficial es disuelta observándose únicamente en el cuerpo de la lesión (Lesión tipo II). Mientras que ante pH 5,5 – en periodos largos – pueden observarse todas las capas con o sin la capa superficial (Lesión tipo III y IV, respectivamente) (75). Ante una clasificación no uniforme, hoy se prefiere analizar la lesión como un todo (mancha blanca) y en términos cuantitativos, es decir, valorando áreas afectadas en lugar de descripciones por capas. (74)

El progreso de la lesión de esmalte va acorde a la distribución de la biopelícula y

dirección de sus prismas. Por tanto, serán más susceptibles en áreas retentivas de placa y a la vez protegidas del desgaste funcional. Superficies proximales, oclusales y tercios cervicales de superficies lisas lo representan. La lesión interproximal se favorece del menor espesor de esmalte, e inicia adyacente a la biopelícula atrapada entre el margen gingival y la faceta de contacto. Se desplaza en dirección de la longitud de los cristales conforme a la mayor porosidad adquirida durante el proceso de caries. Este tipo de avance es motivo para adquirir forma cónica con base a la superficie dentaria y vértice interno. El eje central de la lesión representa la zona de mayor actividad de caries. (76)

En oclusal, encontramos al sistema fosa-surco (depresiones + ranuras interconectadas) que cuando se presentan como hendiduras angostas y profundas ($\text{ángulo} \leq 25^\circ$) forman estructuras negativas conocidas hoy como fisuras. En paralelo con una morfología favorecedora de acúmulo de placa, un patrón eruptivo limitante de la función mecánica oral sería una erupción parcial, oclusión incompleta, no distal. La anatomía de fisura se acompaña con ↓espesor de esmalte y dentina, aunque no probado, se cree producto de falta de alineación entre ameloblastos y odontoblastos en la fase pre-eruptiva. También, se considera podría existir una hipomineralización o hipoplasia indetectable por disturbios debajo de la unión amelodentinaria. Guiado de los prismas, la lesión oclusal en fisuras se inicia en su fondo (vértice cónica) ampliándose hacia la unión amelodentinaria (base cónica), incluso puede desbordar en su entrada –acumulación bacteriana– exponiendo cada vez la comunicación directa de la lesión hacia dentina. (77,78)

Pese a diferencias estructurales y de origen embriológico, la naturaleza del complejo dentino-pulpar (mesenquimal-vascular-celular) se defiende de forma simultánea ante injuria de caries de esmalte a ritmo doble. Antes de alcanzar la unión amelodentinaria, odontoblastos vitales sintetizan proteínas colágenas (tipo I) y no colágenas (fosfoproteínas y sialoproteínas) de la predentina, formando una matriz extracelular donde se deposita el mineral transportado por procesos odontoblásticos. El espacio intracitoplasmático y peritubular se obliteran en más proporción de cristales de HA y de otro más soluble Whitlockite (fosfato β -tricálcico sustituido por Mg). Este proceso de mineralización biorregulado forma una esclerosis tubular o zona translúcida. Esta dentina esclerótica, aunque más frágil que la dentina normal, es menos permeable

así evita la difusión de lesión del espacio peritubular macroporoso. (79)

Cuando la lesión alcanza el límite amelodentinario (LAD), se genera la primera señal de desmineralización de dentina como una decoloración parduzca producto de cambios bioquímicos del colágeno. Esta zona de desmineralización (ZD) se halla limitada al contacto de lesión de esmalte y LAD, retenidos aún por una continua defensa de esclerosis tubular. Al continuar el impulso bacteriano anaeróbico y acidúrico, la acción ácida y enzimática descompone el tejido superficial formando la zona de destrucción. Con el ablandamiento de dentina aparecerían cavitaciones. Ahora la ZD que precede a la zona de destrucción, invade en particular dentina peritubular acercándose cada vez más a la dentina esclerótica. Con un avance rápido, bacterias penetran en los túbulos dentinarios generando tractos muertos y focos de licuefacción formando una zona de invasión bacteriana. Con la destrucción del proceso odontoblástico ubicado en los túbulos, se deja de producir dentina esclerótica. (13,76)

Las reacciones también producen cambios morfológicos en la pulpa dental en las diferentes etapas del progreso de caries, incluso antes de la invasión bacteriana. Se forma dentina terciaria o reparativa por rápida mineralización de túbulos dentinarios de la superficie pulpar promovidas por matriz colágena (sialofosforoproteínas). Se generan nuevas células odontoblásticas (origen del mesénquima pulpar o pericitos) pequeñas y cúbicas, que reemplazan odontoblastos subyacentes dañados. Ahora la predentina convertida en dentina – aunque irregular, amorfa y atubular – consigue ↓permeabilidad dentinal. Con un acercamiento a 0,5-1 mm de la desmineralización de dentina a la pulpa, se generan reacciones inflamatorias (↑TNF-α) de la región sub-odontoblástica, reduciendo la cantidad y tamaño de cuerpos odontoblásticos. (80,81)

La cavitación producto de desmineralización genera protección a la biomasa bacteriana. También existen caries no cavitadas de esmalte-dentina que son respuestas ambivalentes de lesión localizada del proceso débil en esmalte. Tienen pérdida mineral de esmalte insuficiente para disolverla pero con potencial para disolver la dentina. Se atribuye esta lesión a remineralización de fluoruros con alcance protector solo a esmalte retardando la disolución, pero no suficiente para proteger la dentina. También, puede explicarse por la susceptibilidad dejada por defectos en el desarrollo de esmalte que permiten la

ANTECEDENTES

comunicación directa en la zona de fisura de la cavidad oral con el esmalte. (78,82)

Una higiene inadecuada provoca alto riesgo de recesión gingival, particularmente, en adultos mayores. Se expone la unión amelocementaria (área irregular, retentiva de placa) generando caries radicular a lo largo del margen. Su existencia en profundidad de bolsa es incompatible por neutralidad de pH del exudado gingival y se muestra independiente de caries coronal. Al inicio, la invasión bacteriana anaerobia (*S. mutans*, *Propionibacterium acidifaciens*, *Olsenella profusa*, *Prevotella multisaccharivorax*, *Lactobacillus crispatus*) provoca pérdida mineral en dirección de las fibras de Sharpey. Focos de desmineralización permiten el contacto del fluido de cavidad oral y dentina radicular. La dentina radicular es más soluble que la coronal, pero de respuesta similar con esclerosis tubular y dentina reparadora. Las fibras colágenas se degradan y pueden aparecer una variedad de manifestaciones desde decoloración parduzca leve a intensa, con reblandecimiento leve a extenso, con o sin cavitaciones. (83,84)

Criterios diagnósticos: Perspectiva en caries dental

En el 2002, la revisión realizada del *International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials* (ICW-CCT) permitió dilucidar en base a evidencia términos en relación a caries, algunos ya mencionados en apartado anterior sobre enfermedad, proceso y lesión. En base a ello, definieron al diagnóstico de caries como una suma humana profesional de todos los signos y síntomas para identificar la existencia pasada o presente de la enfermedad de caries. Detección de lesiones es el proceso de identificación y/o registro tradicional por medios visuales o físicos de cambios en el esmalte, dentina y/o cemento con la seguridad que han sido causados por el proceso de caries. Evaluación de la lesión sobre características de lesión de caries, una vez que han sido detectadas. Las características pueden incluir parámetros ópticos, físicos, químicos o bioquímicos, como color, forma o integridad de la superficie dental. (85)

El tratamiento requiere del diagnóstico de la enfermedad, y éste a su vez, tiene como etapa la detección de la lesión. En el examen clínico, se detecta el signo de lesión más que el diagnóstico en sí (detección + evaluación). En cualquier forma, es acertado identificar adecuadamente cada paso para evaluar el riesgo de caries y mejorar la decisión del tratamiento. Así, los métodos y estrategias deben adaptarse a ello. (86)

Evaluación clínica: Cavitación y actividad

Considerando el proceso dinámico de caries, confirmada la detección de la lesión de caries, sigue la evaluación de aspectos sobre su gravedad y actividad. La gravedad comprende la extensión de la lesión, es decir, hasta qué punto la pérdida mineral compromete la integridad de la superficie dental. También refiere sobre el alcance de la lesión o medición física de la profundidad en dirección pulpar en escala de fracciones de esmalte y/o dentina. Lesiones intactas son no-cavitadas; mientras que de las lesiones no intactas, las clínicamente no detectables son microcavitadas y las detectables de forma visual y táctil se consideran cavitadas. (87)

La actividad trata sobre la evolución neta hacia la desmineralización y se relaciona con aspectos de ubicación, aspecto visual y sensación táctil. Cuando hay pérdida neta de mineral son lesiones activas. En esmalte, son comunes en zonas de acúmulo de biopelícula (fisuras, superficies cervicales y proximales), aspecto blanco/amarillento, opaco, sin brillo y áspero al examen con sonda roma sobre la superficie. En dentina, es blanda o áspera al examen con sonda. Se consideran inactivas o detenidas cuando no hay avance de pérdida de mineral (“cicatriz” de enfermedad). Se muestra blanquecina, marrón o negra. El esmalte puede ser brillante y es duro y liso al examen con sonda. En superficies lisas, suele estar a cierta distancia del margen gingival. En dentina, puede ser brillante y duro al examen con sonda. (88)

La evaluación de gravedad y actividad suscitan mayor controversia en la búsqueda de encontrar sistemas coherentes para detectar la lesión de caries. Existe gran variabilidad en los criterios utilizados por los métodos de detección. No todos brindan información sobre actividad y no cavitación / microcavitación. Hoy, los consensos consideran que los sistemas diagnósticos no deben prescindir de valorar estos aspectos, por la razón suficiente que es anticiparse en etapas iniciales de la lesión; en caso contrario, aún en etapas más avanzadas, siempre es a favor de tratamientos mínimamente invasivos. Estos aspectos requieren monitoreo en el tiempo que detecten cambios del estado de la lesión y el riesgo. Cada método debe apoyarse en la estandarización de sus resultados en aspectos de gravedad, actividad y monitoreo de caries. (19)

Precisión diagnóstica: Criterios para validación

Con el fenómeno de caries, la manifestación clínica se suele cuantificar y/o cualificar. En los últimos cien años se han desarrollado múltiples métodos, criterios o sistemas, desde los más tradicionales a los más tecnológicos. Se mide lo mismo, pero de distintas maneras ofreciendo variedad de opciones en la práctica clínica diaria. Sin embargo, ello no se traduce necesariamente en beneficio directo para el paciente, por tanto, se debe analizar aspectos internos de tales métodos como la validez y consistencia. La validez implicaría la capacidad de medición para lo que el método fue diseñado y la consistencia implicaría la precisión o exactitud del método. (89)

Es usual detectar la lesión de caries con métodos de tipo discriminativo que identifican estados en un punto específico de tiempo, pero la dinámica del proceso de caries requiere también evaluar cambios e incluso pronosticar (86). Así, la calidad del método dependerá de su sensibilidad al cambio (capacidad para detectar cambios en el tiempo) y estandarización (validez y consistencia). La validez valora la correlación del método frente a una referencia en tiempo presente (v. concurrente) o futuro (v. predictiva) bajo estudios de prueba diagnóstica y ensayos clínicos aleatorizados, respectivamente. Es más sólida una validez predictiva, pero más común de realizar una validez concurrente. La consistencia de variabilidad interobservador evalúa el acuerdo de un observador en distintos tiempos y la intraobservador, entre observadores en un mismo tiempo. La consistencia de reproducibilidad compara mediciones en distintos tiempos. (13,90)

Ante sospecha de enfermedad, la prueba diagnóstica observa la eficacia de una nueva prueba frente al *gold* estándar más cercano a la verdad. Esto se interpreta evaluando sensibilidad [probabilidad del test (+) en enfermos], especificidad [probabilidad del test (-) en no enfermos] y exactitud [% de aciertos sobre el estándar]. Desde la perspectiva clínica, donde no se conoce *a priori* la enfermedad, interesa más el valor predictivo positivo [capacidad de predecir si hay enfermedad cuando el test (+)] y valor predictivo negativo [capacidad de predecir si no hay enfermedad cuando el test (-)]. Esta información *a priori* sumada a información como la prevalencia de la enfermedad, generan probabilidades *a posteriori* según el Teorema de Bayes. Estos resultados son importantes para la práctica clínica cotidiana sobre diagnóstico y pronóstico. (91)

Validación caries dental: Técnicas de laboratorio

El estándar de referencia difiere entre la detección de caries cuantificada o la cualificada por estados. La cantidad de pérdida mineral indica como estándar usual a la microrradiografía transversal vista con luz polarizada, mientras que la medición por estados del proceso de caries está indicada con histología. El estándar histológico usa secciones de dientes al detectar cambios ópticos de tejidos con microscopía. Es más común el uso de microscopía estereoscópica que la de luz. Hay variaciones en los criterios sobre tipo de colorante, factor de aumento, condiciones de inspección, número de puntuación asignada y espesor de sección del diente. (19)

Hay diversos sistemas de puntuaciones histológicas. Sus variaciones se originan en razón de la identificación en unión amelo-dentinaria. Aunque es más sencillo observar esmalte que dentina, lesiones profundas de esmalte se confunden con lesiones superficiales de dentina. Para aumentar la correlación con otros métodos, dichas áreas de lesiones se agruparon en una única puntuación (Score 2) del sistema de clasificación ERK (Ekstrand, Ricketts y Kidd de 1997), de uso más extensivo en la literatura. (92,93)

Debemos considerar que el examen histológico examina *in vitro* y puede condicionar el tipo de estudio. De cualquier forma, la idea de extrapolación para condiciones reales clínicas siempre está presente. Asimismo, está asociado a ciertas consideraciones producto del seccionamiento dental como daño del tejido cariado, selección del área a investigar, correspondencia con la superficie a evaluar y posterior pérdida del espécimen. Dichas condiciones pueden ser aplicadas ante estándares de referencia *in vivo* “no destructivas” como análisis tomográfico. (94)

La microtomografía computarizada es un método de laboratorio que reproduce imágenes de alta resolución de la morfología y dimensión de tejidos duros. En tejidos dentales, permite evaluar pérdida mineral en extensión, localización y cantidad, al examinar múltiples secciones sin daño al tejido. También es posible reevaluar en diferentes tiempos, permitiendo la monitorización de la lesión. Sus características, podrían sugerir un método alternativo a la tradicional referencia histológica. También se requiere considerar características de alto coste y mayor tiempo de análisis. (95,96)

Métodos diagnósticos: Visual-táctil

Los métodos para detección de lesiones de caries son diversos. El visual es de uso más tradicional, muchas veces ayudado con exploración táctil. Un primer reporte de uso de instrumental afilado en forma de hacha para detección, se reportó en 1869. El explorador afilado como tal es utilizado desde el siglo XX. El debate sobre su poca contribución diagnóstica y – en ciertos casos – daño al tejido dental fue sugerido en el 2001. Hoy, un uso adecuado de sondas de punta roma (presión suave y de forma angulada entre 20° y 40° de la superficie), es utilizado para detectar actividad de lesión de caries. (19,97)

El descubrimiento de rayos Roentgen permite el uso de radiografía dental para detectar lesiones de caries, sobre todo, la técnica bitewing usada desde 1925. Un 40-60% de descalcificación es necesaria para producir la imagen, por ello resulta útil en lesiones proximales de dentina; pero inespecífica en esmalte. La mejora en resolución con la técnica digital genera ventajas de tiempo, almacenamiento y radiación. Sin embargo, la sensibilidad de la prueba todavía no es sólida, a ello añadimos el equipamiento requerido y la irradiación proyectada. Algunas consideraciones tienen un campo más prometedor para aumentar la detección de lesiones iniciales como son la mejora computarizada de imágenes, el uso de radiografías por sustracción digital (comparación de píxeles de dos radiografías tipos) y tomografías computarizadas. (98)

Un periodo marcado por falta de optimización en la sensibilidad de los métodos visual-táctil, ha impulsado el uso diagnóstico tecnológico basado en observaciones de variaciones sutiles de propiedades ópticas, eléctricas y térmicas entre dientes sanos y enfermos con caries. Entre los dispositivos más comunes encontramos: DIAGNOdent y QLF (métodos de fluorescencia), DIFOTI (método de fibra óptica) y ECM (método eléctrico). Una revisión sistemática para evaluar su eficacia diagnóstica en detección de lesiones, sobre todo, iniciales de esmalte muestran una falta de soporte metodológico que avale los resultados de los estudios. Asimismo, sus resultados muestran mejores resultados de DIAGNOdent y ECM en comparación con QLF y DIFOTI. En base al nivel de evidencia presentada, señalan que podrían ser consideradas más como ayudas diagnósticas a la visual-táctil. (99,100)

El método visual se extiende por la sencillez técnica, bajo coste de equipamiento y no radiación al paciente. Sin embargo, la efectividad depende de la fuerza del método visual. Solo desde 1950 al 2000, se desarrollaron 29 sistemas de detección de lesiones de caries en el mundo incluyendo los de la Organización Mundial de la Salud (OMS de 1987 y 1997) con resultados no concluyentes sobre validez. Así lo demuestra un primer análisis de validez de criterio del método visual y visual-táctil con valores de sensibilidad baja y una especificidad moderada-alta para lesiones cavitadas y con valores bajos en ambos para lesiones de esmalte (101). Un segundo análisis de validez de contenido sobre evaluación del proceso de enfermedad, exclusión de lesiones no cariosas, subjetividad, uso del explorador y secado dental previo mostró variaciones, sobre todo, en el proceso de enfermedad (actividad y/o cavitación) (97). Por último, la relevancia clínica de la precisión del método visual de 96 estudios seleccionados hasta 2013, mostraron que 76 artículos no encontraron resultados clínicamente relevantes, recomendando necesario reducir el sesgo para mejorar la calidad metodológica. (102)

International Caries Detection and Assessment System: ICDAS

Un periodo marcado de imprecisiones del método visual-táctil con debilidades en la detección de lesiones iniciales de esmalte y lesiones ocultas de dentina permite que aflore nuevamente este método bondadoso, pero bajo el análisis basado en evidencia y orientación preventiva de un grupo de investigadores voluntarios en lo que hoy se denomina ICDAS (Sistema Internacional de Detección y Valoración de Caries) (103). Este sistema nace con el objetivo de mejorar la calidad de la información para la toma de decisiones sobre el caso diagnóstico, pronóstico y tratamiento clínico tanto a nivel de salud pública e individual. Además de la práctica clínica y la salud pública, su campo de acción se extiende a la educacional e investigación clínica. (97,104)

Numerosos eventos permiten la formación y consolidación de ICDAS como un nuevo paradigma de medición de caries. Eventos como la conferencia sobre el diagnóstico de caries (NHI, 2001), el consenso sobre ensayos clínicos en cariología (ICW-CCT, 2002); la planificación de numerosas revisiones sistemáticas llevadas a cabo; la recopilación del glosario de términos de cariología (2009) y definición de caries (2010); otros sistemas de detección [Pitts y Fyffe, Ismail y cols.; BASCD (British Association for the

Study of Community Dentistry); Ekstrand, Ricketts y Kidd; y sistemas realizados por universidades Indiana (EE.UU.) y Dundee (Escocia)]; reuniones propias de ICDAS [Escocia y EE.UU. (2002), EE.UU (2003) y Dinamarca (2004)] y modificación a códigos 3 y 4 en el Taller ICDAS-II (EE.UU., 2005) y posteriores reuniones de ICDAS-II [Colombia (2008), EE.UU. (2010), Francia (2010) y Lituania (2011)]. (105)

La principal característica del sistema clínico visual es detectar y evaluar, clasificando por etapas el proceso continuado de caries en un número variable de categorías discretas, y predecibles de acuerdo a extensión y actividad histológica de lesiones de caries. Es requerimiento para examinar con criterios ICDAS-II, la eliminación de restos de placa y limpieza con cepillo o profilaxis los dientes a examinar. El uso de explorador estará confinado para limpieza de placa y bajo criterio según actividad de la lesión con sonda punta roma WHO/CPI/PSR. La codificación oscila entre 1 y 6, si bien tiene una base general, algunas variaciones para detectar se presentan en base a la zona a detectar (fosas y fisuras, superficie lisa, superficie lisa libre y caries asociadas a restauraciones y CARS). La referencia de la detección para cada código supone mayor grado de gravedad. La clasificación sobre lesión de caries de esmalte y dentina es: código 0 (superficie sana), código 1 (primer cambio visible en esmalte), código 2 (cambio detectable en esmalte), código 3 (ruptura localizada de esmalte), código 4 (sombra oscura subyacente de dentina), código 5 (cavidad detectable con dentina visible) y código 6 (cavidad detectable extensa con dentina visible). (106,107)

Otro objetivo de ICDAS es apoyar la capacitación en el protocolo del examen, la codificación del sistema y el árbol de decisiones. Ello es explicado e ilustrado de forma gratuita en el programa *e-learning* ICDAS-II (versiones en español, inglés, alemán y portugués) (108). Asimismo, encontramos el manual de criterios ICDAS del Taller en Baltimore de 2005, y el módulo de formación ICDAS en caries coronal en formato PowerPoint de ICDAS-II (52 diapositivas) (109) , ambos disponibles en descargas del sitio de fundación web ICDAS. Por último, también se puede localizar toda la literatura actualizada al 2014 de ICDAS y el Sistema Internacional para la Clasificación y Gestión de Caries (ICCMS) que presenta las bases del modelo de gestión preventiva de caries incluyendo la revisión clínica, información al paciente y evaluación de riesgo. (110)

ICDAS-II: Impacto clínico, epidemiológico y educacional

La clasificación de lesiones de caries con una examinación clínica visual-táctil aporta en confianza al profesional para detectar y decidir en el tratamiento. Ello se demuestra con la mayor fiabilidad para observar estados de gravedad y actividad de lesión de caries, aspectos claves del manejo de la intervención a seguir. Si bien los tratamientos se distinguen en métodos, técnicas, entre otros aspectos; los principios que guían los mismos son simples y reforzados del aspecto contemporáneo de intervenciones odontológicas mínimamente invasiva. Hoy, es aceptado las siguientes necesidades de tratamiento como: a) Las lesiones cavitadas no activas requieran restauración, no a razón de caries, sino por dificultad del control de biopelícula. La decisión dependerá también de la motivación del paciente en el control de biopelícula con el correcto cepillado dental. b) Lesiones activas requieran tratamiento operatorio en estados de cavitación siempre enfocados con aspecto preventivo. c) Lesiones activas no-cavitadas requieren tratamiento no operatorio por presentarse como fases iniciales susceptibles de revertirse incluso con cepillado con pastas fluoradas y/o agentes remineralizantes. d) No hay razón para tratamiento ante caries no cavitadas inactivas o detenidas. (76,86)

Las encuestas epidemiológicas de salud bucodental proporcionan la base de los programas de salud oral. Si bien los criterios dados por la OMS de 1997 sobre la detección de lesiones de caries permiten realizar comparaciones entre poblaciones, se muestra menos sensible que el sistema ICDAS. Se considera que los criterios de caries OMS e ICDAS-II son equivalentes para detectar caries en el corte 3-4 de ICDAS₄₋₆ (111). En ese sentido, se estaría sub-estimando la prevalencia e incidencia de caries en la población. Por ello, se justifica el uso de ICDAS-II para estudios epidemiológicos, aunque se deben considerar aspectos como tiempo de examen (doble respecto a OMS) (112) y limitado número de estudios con qué comparar. A pesar de ello, un estudio en 96 odontólogos generales de Europa capacitados en ICDAS-II encontraron al sistema con menor dificultad para comprenderlo y aplicarlo (113). Asimismo, se han realizado algunos estudios epidemiológicos en Alemania, Brasil, Colombia, EE.UU., Islandia, Rumania, Senegal. Solo un estudio existe en España (Comunidad de Valencia) mostrando como la prevalencia a los 6, 12 y 15 años aumenta 30-40% de usar

simuladamente OMS (caries corte 4 al 6) a usar ICDAS-II (caries corte 1 al 6). (114)

Los nuevos conocimientos en cariología aportados en la última década mejoran las competencias de los estudiantes de pregrado. Los temas de enseñanza en cariología a nivel universitario están en relación al curriculum. La necesidad para que los estudiantes adquirieran un conocimiento profundo y sistemático en cariología permitió a dos grupos de trabajo de investigación en caries y de educación dental [European Organisation for Caries Research (ORCA) y Association of Dental Education in Europe (ADEE)] formar un grupo de cariología europeo. El documento fue debatido en base a 5 criterios: I) La base de los conocimientos; II) Riesgo de evaluación, diagnóstico y síntesis; III) La toma de decisiones y la terapia no quirúrgica preventiva; IV) La toma de decisiones y tratamiento quirúrgico y V) La evidencia basada en cariología en clínica y en la práctica de la Salud Pública. (115)

Y por lo mismo, que métodos como ICDAS pueden evaluar situaciones de actividad y profundidad de lesión de caries, requiere de una enseñanza de la práctica dental en condiciones “reales”, es decir, con el uso de dientes naturales en lugar de tipodonto. Razones principales para el no uso de tipodonto son cuestiones relacionadas a la visualización de la unión esmalte-dentina, sensación táctil, olor y visualización, conformación de la cavidad no permiten que sea compatible con la sensación real de un diente natural (22). Otro aporte educacional de ICDAS, está en relación a las tecnologías de la información y comunicación (TIC) como la enseñanza *e-learning* del Programa ICDAS, ha resultado importante para adquirir y mejorar las habilidades tanto de estudiantes de primeros años como de recién graduados, especialmente, en la detección de lesiones iniciales de esmalte (códigos 1 y 2 de caries de ICDAS) y lesiones ocultas de dentina (código 4 de caries de ICDAS) (116). También los odontólogos con años de experiencia, pero sin conocimiento previo en la metodología con ICDAS-II, pueden ser entrenados con el programa *e-learning* y mejorar sus habilidades diagnóstica y de planificación de tratamiento (117). Una simulación de ello encuentra mayor beneficio en costo-efectividad de ICDAS-II complementada con radiografías en comparación con métodos tecnológicos. Beneficios de menor coste del equipamiento odontológico y menor coste biológico y económico al paciente como disminución de sobre-tratamientos que aumentarían la conservación de los dientes y supondría menor

ANTECEDENTES

gasto individual, público o privado. (118)

HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN

3. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN

La investigación se realiza para aportar conocimientos en el campo del diagnóstico de caries dental, por medio de la evaluación de parámetros de validación que permiten comparar la eficacia de las pruebas diagnósticas. Existen dos estudios que han evaluado la exactitud del método de inspección visual frente a la microtomografía computarizada. (95, 127).

Frente al paradigma actual de *gold* estándar histológico aplicable para estudios *in vitro*, importa valorar la utilidad de otros métodos no invasivos para ser usados en la práctica clínica. La microtomografía computarizada se presenta como alternativa de ello para Soviero y cols., aunque con resultados aún no concluyentes para Mitropoulos y cols. Por tanto, es necesario ampliar el estudio para valorar una alternativa de patrón de oro.

El estudio con ICDAS pretende ser de utilidad diagnóstica, sobre todo de lesiones iniciales de esmalte y ocultas de dentina. Existen más estudios con resultados positivos con ICDAS frente a otros métodos radiográficos (95, 123, 124, 126, 127, 129) o de fluorescencia (126, 129, 134). Sin embargo, no se observa su interpretación respecto a otros indicadores de validación como valores predictivos y razones de verosimilitud con mayor utilidad para el diagnóstico clínico.

Finalmente, estudios de pruebas diagnósticas de lesiones de caries se enfocan en el beneficio de la salud dental de los pacientes. La exactitud que proyecten apoya la detección de lesiones de caries lo antes posible para evitar el avance del progreso de la lesión y el uso de odontología mínimamente invasiva. El coste-beneficio de los métodos estudios ICDAS-II y Micro-CT deben ser analizados.

En base a lo señalado, según la evidencia analizada, la hipótesis de esta investigación es que la probabilidad de detectar lesiones de caries es mayor cuando se examina con microtomografía computarizada que en comparación a ICDAS-II.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Comparar la validez *in vitro* del sistema de clasificación visual (ICDAS-II) y la Microtomografía Computarizada (Micro-CT) para la detección de lesiones de caries oclusales y proximales usando como *gold* estándar el análisis histológico.

4.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar parámetros de validación de sensibilidad, especificidad, índice de validez, índice de Youden, áreas bajo la curva de ROC, valores predictivos positivos y negativos, razón de verosimilitud positiva y negativa de ICDAS-II y Micro-CT.
2. Determinar el acuerdo intra-examinador y correlación de ICDAS-II y Micro-CT para detección de lesión de caries oclusales o proximales.
3. Calcular las probabilidades post-prueba de lesión de caries con ICDAS-II y Micro-CT según umbrales de detección en superficies oclusales y proximales.
4. Evaluar el potencial de Micro-CT como sustituto del análisis histológico para detectar lesiones de caries oclusales y proximales según umbrales de detección.

MATERIAL Y MÉTODO

5. MATERIAL Y MÉTODO

Inicialmente, la estructuración del estudio está en base a dos temas específicos: Validez *in vitro* de la inspección visual con ICDAS-II según un estándar histológico y b) Potencial de la tomografía computarizada como referencia en relación al examen histológico. Para que el resultado del estudio sea contrastado, se realizó una búsqueda en la literatura que informara sobre exactitud de detección de lesión de caries con los métodos mencionados.

Como estrategia de búsqueda se enlazaron palabras claves con operadores booleanos: (“caries” OR “dental caries” OR “caries detection” OR “caries diagnosis” OR “caries assessment” OR “occlusal caries” OR “proximal caries”) AND (“visual examination” OR “visual inspection” OR “ICDAS II” OR “ICDAS” OR “International Caries Detection and Assessment System”) AND/OR (“tomography” OR “microtomography”). Los artículos se limitaron al idioma inglés y publicados durante los últimos cinco años [enero de 2009 a marzo de 2015] en MedLine (PubMed) y EMBASE. Con el fin de reducir el sesgo de publicación de la estrategia de búsqueda, se realizó una verificación manual de las referencias de artículos incluidos y de la literatura de la web ICDAS-II en busca de artículos no publicados. Asimismo, se cotejaron para evitar duplicados.

Concluida la búsqueda, se seleccionaron artículos que cumplieran los siguientes criterios: a) Estudios de diseño *in vitro* o *ex vivo* en dientes humanos. b) Estudien detección de lesiones de caries en superficies oclusales (O*), proximales (P**) o lisas producidas naturalmente. b) Examinados con inspección visual de ICDAS-II o acompañado de un método tomográfico. c) Comparados con una referencia histológica. d) Describan por lo número de lesiones codificadas según cada método de detección y valores de sensibilidad y especificidad. e) Artículos en formato full text. Las dudas fueron revisadas por un segundo examinador (K.C.S). Artículos que no permitieran deducir los

MATERIAL Y MÉTODO

valores predictivos, razón de verosimilitud o AUC (área debajo de curva), fueron excluidos.

Los artículos (n=17) fueron sintetizados en una tabla estructurada que informan la referencia, el método y los resultados. La mayoría de estudios procedían de Brasil (n=8) e informaron todas las codificaciones de lesiones de caries con ICDAS-II (1-6) tanto en esmalte como en dentina (n=15). Solo cuatro artículos estudiaron además sistemas diagnósticos (SD) con tomografía, dos con Microtomografía Computarizada y dos con tomografía de coherencia óptica (OC-T). La mayoría de artículos usaron un único criterio histológico (n=15), el doble de estudios evaluados con criterios ERK de Ekstrand, Ricketts y Kidd de 1999 (n=10) que respecto a Downer de 1975 (n=5). Entre 37 a 231 superficies fueron examinados de 20 a 163 dientes. Con excepción de un artículo, se encontró la valoración del acuerdo intra-examinador de ICDAS-II para detección de lesión de caries, el cual osciló entre 0,40 a 0,96; asimismo, tres artículos no informaron del acuerdo inter-examinador, su valor osciló entre 0,35-0,97. El acuerdo intra y/o inter-examinador (Intra E/ Inter E) fue superior a 0,80 con los métodos tomográficos (Rx.T). Los resultados de correlación entre la detección de lesión de caries con ICDAS-II y la referencia histológica (n=12) varió entre 0,42 a 0,82, mientras que la correlación del método de tomografía y el histológico varió de 0,65 a 0,86.

Valores de sensibilidad (S), especificidad (E), exactitud (EX), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), prevalencia (P%), razón de verosimilitud positiva [RV(+)], razón de verosimilitud negativa [RV(-)] y área bajo la curva (AUC) fueron extraídas del artículo, valoradas si no se mostraron y verificadas para comprobar su exactitud según los resultados o la tabla descriptiva de cada estudio para valoración de pruebas diagnósticas con programa Excel o paquete estadístico SPSS 15.0. Los valores fueron hallados de acuerdo al punto de corte histológico, ICDAS-II y/o tomográfico. Los puntos de cortes más habituales fueron entre 0-1 y 2-3 para todos los métodos: histológico (H1 y H3, respectivamente), ICDAS-II (D1 y D3, respectivamente) y tomográfico (T1 y T3, respectivamente). La mayoría de artículos (n=13) mostraron valores de AUC $\geq 0,75$ con VPP/VPN (mayor de 0,61 y 0,44; respectivamente), generalmente, cuando concordaban los cortes 1 y 3 en ambos métodos (ICDAS vs Histológico). La comparación de la tomografía vs. histológico mostró valores de AUC de 0,66 a 0,90 y sus valores predictivos eran superiores a 0,67. La tabla de referencia de los artículos se muestra a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Estudios de validez y reproducibilidad *in vitro* de inspección visual ICDAS-II y/o radiografía digital tomográfica (Micro-CT, OCT) respecto al *gold* estándar histológico.

Referencia (Año) País	Método					Resultados															
	Sistema DX.		Gold estándar	Muestra		ICDAS-II		Rx.-T	Correlación SD vs. H		Umbral DX.		Validez de criterio								
	Visual-Táctil	Rx. T	Criterio histológico	# Dientes	# Sitios	Intra E	Inter E	Intra E /Inter E	ICDAS -II	Rx. T	SD	H	S	E	EX	VPP	VPN	P%	RV(+)	RV(-)	AUC
Shoaid y cols. (2009) Canadá (119)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	112	107 (O*) y (P**)	0,78	0,68	-	-	-	D1*	H1	0,75	0,90	0,78	0,97	0,46	81,3%	7,47	0,28	0,83
											D3*	H3	0,63	0,93	0,76	0,93	0,66	57%	9,6	0,4	0,78
											D1**	H1	0,66	0,85	0,73	0,91	0,56	67,4%	4,6	0,4	0,77
			D3**			H3	0,58				0,94	0,82	0,84	0,82	33,9%	9,5	0,4	0,71			
			D1*			H1	0,75				0,90	0,78	0,97	0,46	81,3%	7,47	0,28	0,83			
			D3*			H3	0,78				0,87	0,83	0,81	0,85	40,2%	6,1	0,3	0,88			
			D3**			H3	0,75				0,91	0,87	0,70	0,92	22,3%	7,6	0,3	0,82			
Diniz y cols. (2009) Brasil (120)	ICDAS-II (0-5)	-	Ekstrand y cols. (1997)	163	163 (O)	0,58-0,59	0,51	-	0,42-0,49	-	D2	H2	0,91	0,5	0,87	0,94	0,41	87%	1,82	0,18	0,71
											D3	H3	0,84	0,53	0,60	0,35	0,92	23%	1,78	0,30	0,69
			Lussi y cols. (1999)								D2	H2	0,91	0,47	0,86	0,93	0,41	0,86%	1,73	0,19	0,69
											D3	H3	0,75	0,62	0,68	0,64	0,74	47,2%	1,96	0,40	0,63
Braga y cols. (2009) Brasil (121)	ICDAS-II (0-5)	-	Downer (1975)	98	98 (O)	0,90-0,93	0,86-0,97	-	0,82	-	D1	H1	0,92	0,78	0,87	0,88	0,85	62,2%	4,2	0,1	0,90
											D1	H2	0,96	0,65	0,81	0,73	0,94	50%	2,8	0,1	0,89
											D3	H3	0,72	0,93	0,89	0,68	0,94	18,4%	9,6	0,3	0,89
Braga y cols. (2010) Brasil (122)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	50	50 (O)	0,81	0,91	-	0,78	-	D1	H1	0,85	0,79	0,82	0,81	0,83	52%	4,1	0,2	0,86
											H2	H2	0,61	0,89	0,76	0,82	0,73	46%	5,5	0,4	0,86
											H3	H3	0,69	0,95	0,88	0,82	0,90	26%	12,8	0,3	0,94
Mitropoulos y cols. (2010) Grecia (95)	ICDAS-II (0-3)	MCT	Downer (1975)	20	40 (P)	-	0,51	0,81	0,7 - 0,83	0,76-0,78	D1	H1	0,92-0,96	0,5-0,63	0,77-0,8	0,74-0,79	0,83-0,89	60%	1,92-2,44	0,08-0,13	0,73-0,77
											D3	H3	0,94-1	0,41-0,5	0,65-0,67	0,58-0,61	0,92-1	45%-58%	1,69-1,89	0-0,11	0,68-0,77
											T1	H1	0,83	0,88	0,85	0,91	0,78	60%	6,67	0,19	0,85
											T3	H3	0,89-0,94	0,73-0,77	0,8-0,85	0,73-0,77	0,89-0,94	45%	3,26-4,16	0,07-0,15	0,80-0,86
Diniz y cols. (2011) Brasil (123)	ICDAS-II (0-6)	-	Ekstrand y cols. (1997)	104	104 (O)	0,88	0,81	-	0,63	-	D1	H3	0,83	0,79	0,81	0,63	0,92	94,2%	4,11	0,21	0,81
Neuhaus y cols. (2011) Suiza (124)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	37	37 (O)	0,54-0,92	0,35	-	-	-	D1	H1	0,82	0,65	0,77	0,88	0,58	73%	2,72	0,26	0,74
											D3	H3	0,83	0,85	0,85	0,69	0,92	29,7%	5,32	0,21	0,84

Tabla 1. (Cont.) Estudios de validez y reproducibilidad *in vitro* de inspección visual ICDAS-II y/o radiografía digital tomográfica (Micro-CT, OCT) respecto al *gold* estándar histológico.

Referencia (Año) País	Sistema DX.		Método	Muestra		ICDAS-II		Rx.-T	Correlación SD vs. H		Umbral DX.		Resultados								
	Gold estándar		Criterio histológico	# Dientes	# Sitios	Intra E	Inter E	Intra E /Inter E	ICDAS- II	Rx. T	SD	H	Validez de criterio								
	Visual- Táctil	Rx. T											S	E	EX	VPP	VPN	P%	RV(+)	RV(-)	AUC
Mitropoulos y cols. (2012) Grecia (125)	ICDAS-II (0-3)	-	Ekstrand y cols. (1997)	38	38 (O)	0,82-0,99	0,77-0,91	-	0,44-0,48	-	D1	H1	0,81-0,84	0,66-0,68	0,82	0,93	0,44	84,2%	13,5-16,7	1-1,25	0,75-0,81
Novaes y cols. (2012) Brasil (126)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	77	113 (O)	0,76	0,63	-	0,83	-	D1	H1	0,96-0,99	0,18-0,25	0,63-0,66	0,61-0,63	0,82-0,92	56,6%	1,19-1,30	0,06-0,17	0,78-0,80
											D3	H3	0,53-0,58	0,98-0,99	0,91	0,85-0,91	0,91-0,92	16,8%	27,21-49,47	0,43-0,48	0,88-0,89
Soviero y cols. (2012) Brasil (127)	ICDAS-II (0-5)	MCT	Ekstrand y cols. (1997)	48	48 (P)	-	0,93	0,87	0,74	0,86	D1	H1	0,82	0,88	0,85	0,97	0,57	81,3%	7,62	0,17	0,79
											D3	H3	0,44	0,97	0,79	0,88	0,78	33,3%	14	0,6	0,70
											T1	H1	0,92	0,67	0,88	0,92	0,67	81,3%	2,77	0,12	0,91
											T3	H3	1	0,97	0,98	0,94	1	33,3%	32	0	0,98
Gomez y cols. (2013) Brasil (128)	ICDAS-II (0-4)	OCT	Downer (1975)	112	112 (O)	0,85	-	0,80	0,88	0,65	D1	H1	1	0,87	0,97	0,97	1	79,5%	7,67	0	0,94
											D3	H3	0,87	0,94	0,91	0,91	0,91	41,1%	14,4	0,14	0,90
											T1	H1	0,99	0,52	0,89	0,89	0,92	79,5%	2,07	0,02	0,76
											T3	H3	0,33	0,98	0,94	0,68	0,71	41,1%	21,52	0,68	0,66
Souza y cols. (2013) Brasil (129)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	79	79 (O)	0,60-0,96	0,84	-	0,72	-	D1	H1	0,75	0,74	0,75	0,90	0,48	75,9%	2,85	0,34	0,79
											D2	H2	0,83	0,70	0,77	0,76	0,79	53,2%	2,8	0,2	0,83
											D3	H3	0,64	0,94	0,83	0,86	0,83	35,4%	10,9	0,4	0,9
Teo y cols. (2014) Singapur (130)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	38	102 (O)	0,88-0,91	0,84	-	-	-	D1	H1	0,91	0,71	0,86	0,91	0,71	76,5%	3,12	0,13	0,81
											D2	H3	0,98	0,60	0,75	0,63	0,97	41,2%	2,44	0,44	0,79
											D3	H3	0,81	0,85	0,83	0,79	0,86	41,2%	5,40	0,22	0,83
Sisodia y cols. (2014) India (131)	ICDAS-II (0-4)	-	Ekstrand y cols. (1997)	60	60 (O)	0,54-0,72	0,46	-	-	-	D1	H1	0,67-0,71	0,72-0,73	0,68-0,72	0,88-0,89	0,42-0,43	75-77%	2,5	0,39-0,45	0,72-0,73
Holtzman y cols. (2014) EE.UU. (132)	ICDAS-II (0-4)	OCT	Ekstrand y cols. (1997)	120	120 (O)	-	-	-	-	-	D1	H1	0,92	0,83	0,90	0,91	0,85	65,8%	5,41	0,09	0,88
											T1	H1	0,94	0,85	0,92	0,91	0,89	65,8%	6,49	0,06	0,90
Neuhaus y cols. (2014) Suiza (133)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	118	118 (P)	0,40-0,43	0,64	-	-	-	D1	H1	0,3	0,79	0,46	0,75	0,35	67,8%	1,43	0,89	0,54
											D3	H3	0,29	0,89	0,71	0,53	0,75	30,8%	2,6	0,8	0,56
Ko y cols. (2015) Korea (134)	ICDAS-II (0-6)	-	Downer (1975)	95	95 (P)	-	0,96	-	0,64	-	D1	H1	0,80	0,68	0,78	0,91	0,46	80%	2,54	0,29	0,74
											D3	H3	0,64	0,68	0,67	0,26	0,92	14,7%	2	0,5	0,66

5.1 Diseño del estudio

Esta investigación representa un estudio de prueba diagnóstica con el objetivo de evaluar la validez para discriminar presencia o ausencia de lesiones de caries de dos grupos, sistema visual ICDAS-II y método tomográfico Micro-CT, frente a un *gold estándar* histológico de forma *in vitro*, transversal y comparativa.

5.2 Muestra

La muestra estuvo formada por 36 dientes permanentes humanos (28 premolares, 8 molares), no restaurados, conservados en agua destilada post-exodoncia dental, seleccionados aleatoriamente desde diciembre de 2014 a mayo de 2015, por muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

5.2.1 Criterios de inclusión

- Dientes premolares o molares.
- Dientes exfoliados naturalmente o de extracciones consentidas por criterios patológicos y ortodónticos.
- Dientes recolectados por odontólogos ajenos al estudio, hasta 6 meses antes de inicio de la ejecución de la investigación.
- Dientes guardados en agua destilada posterior a la extracción.
- Sin tratamientos restaurativos o sellantes.
- Sin hipoplasia de esmalte o fluorosis dental oclusal o proximal.
- Sin daño coronal evidente por procedimientos de extracción.

5.2.2 Criterios de exclusión

- Cavidad extensa evidente de dentina valorada con código 6 de ICDAS-II.
- Dientes dañados o pérdidas durante el procesamiento de ICDAS-II y/o Micro-CT y/o análisis histológico.

5.2.3 Distribución de la muestra

La muestra fue distribuida por tipos de superficies. Se observaron 36 superficies oclusales y 72 superficies proximales. La muestra fue emparejada para ambas pruebas diagnósticas (ICDAS y Micro-CT) y el gold estándar histológico ERK. Ningún diente tuvo daño o pérdida durante el procesamiento de muestras.

Los detalles de superficies observadas por cada sistema diagnóstico evaluado frente al gold estándar histológico se muestran a continuación:

	Número de dientes	Superficies oclusales	Superficies proximales	Dientes perdidos
Prueba diagnóstica				
ICDAS-II	36	36	72	0
Micro-CT	36	36	72	0
Gold estándar				
Histología de ERK	36	36	72	0

5.3 Definición de variables

Variables pruebas diagnósticas

Sistema ICDAS-II

Definición.

Método visual para la detección y valoración de caries según los criterios ICDAS-II (106). Se valoraron según los códigos de lesiones de caries de superficies oclusales y proximales.

Indicadores:

- Código 0: Superficie sana
- Código 1: Primer cambio visible en esmalte
- Código 2: Cambio detectable en esmalte
- Código 3: Ruptura localizada de esmalte
- Código 4: Sombra oscura subyacente y/o cavidad en dentina.

Análisis de Micro-CT

Definición.

Método radiográfico de versión modificada a Microtomografía Computarizada (Micro-CT). Se valoraron según los códigos de radiolucidez radiográfico oclusales o proximales de la clasificación de Mejare y cols. en 1999 (135).

Indicadores: Código 0: No radiolucidez visible
 Código 1: Radiolucidez visible a la ½ externa de esmalte
 Código 2: Radiolucidez visible a la ½ interna de esmalte, incluye LAD
 Código 3: Radiolucidez visible en la mitad externa de dentina
 Código 4: Radiolucidez visible en la mitad interna de dentina

Variable referente

Criterio histológico (CH)

Definición.

Método considerado patrón de referencia de lesiones de caries. Se valorará según los códigos de desmineralización la clasificación de clasificación ERK (Ekstrand, Ricketts y Kidd de 1997 (136), vistos con estereomicroscopía.

Indicadores: Código 0: No desmineralización visible
 Código 1: Desmineralización visible en la mitad externa de esmalte
 Código 2: Desmineralización visible en la mitad interna de esmalte
 Código 3: Desmineralización visible en la mitad externa de dentina
 Código 4: Desmineralización visible en la mitad interna de dentina

Variables intervinientes

Superficie de detección

Definición.

Referido a la localización de la superficie anatómica a detectar. Se valoró según tipo de superficie dental. (137, 138)

Indicadores: Proximal: Superficie adyacente al diente contiguo.

Oclusal: Superficie de masticación de los dientes posteriores.

Umbral de medición

Definición.

Límite inferior de un punto de corte de detección de la lesión de caries que distingue sanos y enfermos. Se aplicó a todas las pruebas diagnósticas de estudio en el umbral 1 y 3. (139,140)

Indicadores: Umbral 0/1: Códigos 0 sanos y ≥ 1 con lesiones de caries para ICDAS-II (D1), Micro-CT (T1) y CH (H1).
Umbral 2/3: Códigos 0 sin lesiones y mayor de 1 con lesiones de caries [ICDAS-II (D3), Micro-CT (T3), CH (H3)]

5.4 Materiales

- 36 dientes humanos almacenados en recipientes de agua destilada.
- Acrílico autopolimerizable Acry Tray (Rutrinium®, Dental Manufacture, Italia)
- Material de impresión con alginato cromática (Matech, inc.®, USA)
- Base de datos Medline (Pubmed), Biblioteca Cochrane y Embase.
- Cámara fotográfica digital Nikon Coolpix 4500®.
- Cámara fotográfica digital Sony DSR® (Sony Corporation®, Thailandia)
- Estereomicroscopio Leica MZ12® (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemania)
- Fichas de recogida de datos ICDAS-II, Micro-CT y ERK.
- Kit de limpieza: cepillo, pasta dental y agua.
- Material de escritorio para identificación y posicionamiento de muestras.
- Material de examen: guantes, mascarilla, lentes, espejo bucal y sonda de exploración.
- Microtomo Exart 1010® (Extex Co., Enfield, USA)
- Ordenador Sony Vaio® equipado con programas Microsoft Office 2013 (Word, Excel y Power Point), programas estadísticos (Epidat® 3.1 y SPSS® 15.0) y software de MatLab® 8.2.
- Recipientes portamuestras herméticos.

- Sistema de Tomografía de Haz Cónico.
- Unidad dental acondicionada con luz fría y jeringa triple.

5.5 Método

5.5.1 Comité de Ética

El estudio fue sometido al dictamen del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos obteniendo resolución favorable C.I. 15/277-E (Anexo 1).

5.5.2 Preparación de especímenes

1. Los dientes fueron extraídos de los recipientes embebidos en agua destilada.
2. Fueron limpiados por 10 s. con cepillado, pasta dental, y agua a temperatura ambiente. Colocados luego en un recipiente con agua a temperatura de 37°C.
3. Al enfriamiento, se procedió a la selección conforme a los criterios de inclusión y exclusión por un examinador experimentado (Examinador A).
4. La raíz de cada diente fue cubierta con un soporte de acrílico fotocurado (15 mm x 15 mm). Culminada la polimerización, cada muestra fue marcada según la superficie mesial (color verde) y vestibular (color rojo) en la pared acrílica.
5. Cada muestra de forma aleatorizada, fue fotografiada en oclusal, mesial y distal (Borde superior vestibular y derecho mesial). Las imágenes se registraron en archivo en orden de números consecutivos por cada diapositiva.
6. Muestras se colocaron en recipientes porta-muestras embebidos en agua destilada con la numeración respectiva, que se mantuvo durante todo el estudio.

5.5.3 Examen visual ICDAS-II

1. El examen ICDAS-II fue realizado por un examinador A (K.C.S) entrenado en Taller práctico-clínico de Calibración ICDAS con la participación de experta (M.M.B; Universidad Sao Paulo, Brasil) y calibrado en investigaciones anteriores (141, 142) obteniendo kappa >0,8.
2. El examen visual se realizó en la Clínica de Odontopediatría de la Facultad de Odontología UCM, ambientado con unidad dental, reflector de luz fría y jeringa

de aire triple.

3. Dientes fueron examinados a una distancia de observación de 30 cm, observados directamente o complementados con espejo bucal sin magnificación.
4. Se examinaron hasta 12 dientes por día, con descansos entre observaciones de 30 segundos.
5. Durante las revisiones, los dientes estuvieron en condiciones de humedad, luego observados en seco (aire por 5 s.) según protocolo ICDAS-II.
6. Cada código fue anotado en una ficha de registro (Anexo 2) según superficie oclusal y proximal.
7. Ficha se entregó a examinador B (J.D.V) en sobre cerrado para cegamiento.
8. Especímenes fueron colocados en recipientes con agua destilada.
9. Una semana después, las mediciones se repitieron al total de muestra, blindado de la numeración dentaria para analizar reproducibilidad intra-examinador.

5.5.4 Examen tomográfico Micro-CT

1. Cada muestra se posicionó con mesial a la derecha y distal a la izquierda en el porta-muestra del equipo de Micro-CT, realizado por el examinador B (J.D.V).
2. El manejo Micro-CT lo realizó un operador experto del grupo de Investigación en Técnicas de Imagen por Micro-CT del Departamento de Radiología de la Facultad de Medicina, UCM. Se utilizó el Laboratorio de rayos X situado en la Facultad de Química-UCM.
3. Secciones de imágenes fueron obtenidas en condiciones de irradiación de: 100 kV; 98 μ A; 1 mm de filtro; 8,09 mm de tamaño de pixel con 1024 x 1024 de resolución; 180° a 0,23° de rotación; 4 de tamaño de apertura; 6 s. de tiempo de exposición.
4. Reconstrucción de la imagen en corte axial y longitudinal fue realizada con el uso de software suministrado por el fabricante y su adaptación para la reconstrucción en 3D.
5. Análisis de imágenes se realizarán por el examinador B (J.D.V) mediante el uso de software MatLab®, en pantalla de ordenador, en condiciones de iluminación y distancia adecuada.
6. Imágenes fueron vistas sin modificación inicial y luego en condiciones de

corrección de tamaño, brillo, posición y escala de grises.

7. Áreas de desmineralización se clasificaron según Mejare y cols. de 1999 (135) por el examinador B (J.D.V) previo entrenamiento.
8. Cada código fue anotado en una ficha de registro (Anexo 2) según superficie oclusal y proximal.
9. Ficha fue entregada al examinador A (K.C.S) en sobre cerrado para cegamiento.
10. Especímenes fueron colocados en recipientes con agua bajo refrigeración.
11. Una semana después, se repitió el análisis de imágenes radiográficas en la totalidad de la muestra, blindado de la numeración de imágenes, para analizar reproducibilidad intra-examinador.

5.5.5 Examen histológico

1. Tras la detección de exámenes anteriores, especímenes fueron secados al aire a temperatura ambiente durante una semana como preparación previa al examen histológico.
2. El examen histológico fue realizado en el Laboratorio de Conservadora del Departamento de Odontología Conservadora de la Facultad de Odontología UCM, ambientado con equipos para cortes y observaciones histológicas microscópicas.
3. El archivo de imágenes PPT de ICDAS y Micro-CT servirá para ubicar la región de interés.
4. El obtención de muestras siguió los procedimientos de Carranza de 2015 (142):
 - *Cada diente fue posicionado para obtener cortes de mesial a distal en el centro oclusal, perpendicular al eje dentario, usando micrótopo con una banda diamantado de 200 µm de espesor.*
 - *Después del posicionamiento central en oclusal, la línea de corte fue reubicada a 2,4 mm del lado izquierdo del centro oclusal, lugar donde se realizó el primer corte (ubicación con micrótopo: 2 movimientos automáticos = 20 mm + 4 vueltas manuales sentido horario = 0,4 mm). Consecutivamente, se realizaron cortes estandarizados en cada nuevo posicionamiento a 1,2 mm del lado derecho del primer corte registrado*

[ubicación con micrótopo: 1 movimiento automático = 10 mm + 2 vueltas manuales sentido antihorario = 0,2 mm).

- *Se obtuvo entre 4 a 5 cortes (4 en premolares y 5 en molares), un corte final permitió retirar el área radicular a la altura de la unión cemento esmalte.*
- *Se extrajeron entre 3 a 4 láminas histológicas (3 en anteriores y premolares y 4 en molares), de espesor 1 mm. Los cortes se obtuvieron en condiciones de irrigación constante, con el inicio de cada corte realizado con velocidad 3 y luego en aumento progresivo hasta velocidad 7 a 8.*
- *Cada sección histológica se colocó en el portaobjetos de un estereomicroscopio y se analizó de forma individual a magnificación 15X.*
- *El examen fue complementado con imágenes fotográficas protegidas de reflejos de luz, al mismo enfoque y magnificación.*
- *El análisis se valoró según la clasificación de ERK de 1997 (136) por el examinador A y B, previo entrenamiento. En caso de discrepancias, la evaluación de imágenes fue repetida hasta lograr acuerdo. Los códigos fueron anotados en el anexo 2.*

5.6 Recogida de datos, manejo y análisis

5.6.1 Recolección de datos

Datos fueron registrados en una hoja de cálculo Excel. Las codificaciones se distribuyeron de la siguiente forma:

- Codificaciones de lesiones oclusales se anotaron separadas de las proximales.
- Valores para ICDAS: códigos 0 al 4.
- Valores para Micro-CT: códigos 0 al 4.
- Valores para CH: códigos 0 al 4.
- Códigos de acuerdo a ausencia de lesión (0) o presencia de lesión (1).

5.6.2 Manejo y análisis estadístico

Los programas estadísticos Epidat® versión 3.0, SPSS® versión 15.0 y Stata 12.0 fueron manejados por el investigador principal, con estudios de especialidad de

Estadística en Investigación. Se realizó estadística descriptiva en el que se elaboraron:

- Tablas de contingencia 2x2 (lesión vs. no lesión) y 5x5 (códigos de caries) de los métodos diagnósticos (ICDAS-II, Micro-CT) de estudio versus la prueba de referencia histológica.

Luego, se analizó los indicadores de reproducibilidad según:

- Coeficiente kappa de Cohen para la concordancia intra-examinador de cada prueba diagnóstica en el umbral 1 y 3. Los resultados fueron interpretados según Landis y Koch (143) considerado moderado (0,40-0,60), alto (0,61-0,80) y muy alto (0,80-1).
- Coeficiente de correlación de Spearman de los criterios diagnósticos y el histológico. La valoración se interpretó según Fleiss (144), considerado como muy buena ($>0,75$) y de regular a buena (0,40 - 0,75).

Se analizó los indicadores de validación según:

- Probabilidades de sensibilidad, especificidad, área bajo la curva de ROC (AUC_{ROC}), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), índice de validez (IV), índice de Youden (IJ), razón de verosimilitud positiva ($RV+$), razón de verosimilitud negativa ($RV-$) de las pruebas diagnósticas según gold estándar histológico por superficies y umbrales de detección.
- $RV+$ valoradas según Jaeschke (145) se considera como incremento insignificante a rangos >1 a 2; pequeño a rangos >2 a 5; moderado entre >5 -10 y amplio >10 . Valores de $RV-$ más cercanos a 0, se consideran óptimos para evaluar una prueba diagnóstica.
- Probabilidades post-prueba aplicando estadística Bayesiana, se evaluó para ICDAS y Micro-CT, fijando como probabilidad pre-prueba 72% (142, 146).
- Todos los indicadores de validación mencionados fueron evaluados hacia ICDAS usando como gol estándar Micro-CT y criterio histológico.

Se realizó estadística inferencial comparando:

- Coeficientes de concordancia kappa entre pruebas diagnósticas mediante la prueba de homogeneidad de kappas con Chi cuadrado.

MATERIAL Y MÉTODO

- Área bajo la curva de ROC se comparó entre las pruebas diagnósticas según umbral y superficie de detección mediante prueba de homogeneidad de áreas Chi cuadrado.
- Indicadores de validación de las pruebas diagnósticas según umbral y superficie de detección de caries se compararon mediante la prueba de McNemar.

El nivel de significación estadística se estableció en $p < 0,05$.

RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. Códigos de criterios diagnósticos

6.1.1. Superficies oclusales

Los resultados de codificaciones de las muestras se presentan en la Tabla 1, para los exámenes con ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico. De 36 superficies oclusales de muestra, el examen histológico ERK reveló 4 superficies sanas y 32 con caries pertenecientes a códigos 1 y 2. De los sistemas diagnósticos evaluados, la Micro-CT se aproximó más al criterio ERK en el número de superficies descritas por cada código, que en comparación a ICDAS-II.

Tabla 1. Tabulación de códigos de lesiones de caries en superficies oclusales con ICDAS-II y Micro-CT frente a gold estándar histológico.

Histología de ERK	ICDAS-II (n=36)						Micro-CT (n=36)					
	0	D1	D2	D3	D4	Σ	0	T1	T2	T3	T4	Σ
0	2	3	4	0	0	9	3	3	2	0	0	8
H1	2	3	10	0	0	15	1	4	0	0	0	5
H2	0	1	9	0	0	10	0	0	23	0	0	23
H3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
H4	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Total	4	7	25	0	0	36	4	7	25	0	0	36

6.2. Superficies proximales

Las codificaciones en superficies proximales de ICDAS II y Micro-CT (n=72) frente al gold estándar histológico se presentan en la Tabla 2. Mientras la detección de superficies sanas con histología (n=54) fue sobrevalorada con Micro-CT (8 superficies más), fue subvaluada con ICDAS-II (7 superficies menos). Caso contrario sucedió con superficies con caries en ambos sistemas diagnósticos.

Tabla 2. Tabulación de códigos de lesiones de caries en superficies proximales con ICDAS-II y Micro-CT frente a gold estándar histológico.

Histología de ERK	ICDAS-II (n=72)						Σ	Micro-CT (n=72)						Σ
	0	D1	D2	D3	D4			0	T1	T2	T3	T4		
0	41	5	1	0	0	47	53	8	1	0	0	0	62	
H1	10	6	1	0	0	17	1	4	0	0	0	0	5	
H2	3	2	0	0	0	5	0	1	1	0	0	0	2	
H3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
H4	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	2	2	
Total	54	13	2	0	3	72	54	13	2	0	0	3	72	

6.3. Tablas de contingencia de umbrales de detección

Los sistemas ICDAS II y Micro-CT se presentaron en tablas dicotómicas (lesión y no lesión de caries) frente al examen histológico ERK en el umbral 1 y 3 de detección de caries (Tabla 3 y 4, respectivamente). Hubo una mayor coincidencia de número de superficies sanas y enfermas de Micro-CT, en relación al gold estándar histológico, en el umbral 1, tanto para superficies oclusales como proximales. Sin embargo, en el umbral 3, la detección de lesiones fue la misma para ambas pruebas diagnósticas.

Tabla 3. Tabla de contingencia de lesiones de caries con ICDAS-II y Micro-CT frente a criterios histológicos ERK en el umbral 1.

Sistema	Umbral de detección 1	Histología de ERK					
		Oclusal			Proximal		
		SI	NO	Total	SI	NO	Total
ICDAS-II	SI	25	2	27	12	13	27
	NO	7	2	9	6	41	45
Micro-CT	SI	27	1	28	9	1	10
	NO	5	3	8	9	53	62
Total		32	4	36	18	54	72

Umbral de detección 1: códigos 0 sin lesión de caries, códigos ≥ 1 con lesión de caries.

Tabla 4. Tabla de contingencia de lesiones de caries con ICDAS-II y Micro-CT frente a criterios histológicos ERK en el umbral 3.

Sistema	Umbral de detección 3	Histología de ERK					
		Oclusal			Proximal		
		SI	NO	Total	SI	NO	Total
ICDAS-II	SI	0	2	2	3	0	3
	NO	0	34	34	0	69	69
Micro-CT	SI	0	2	2	3	0	3
	NO	0	34	34	0	69	69
Total		0	36	36	3	69	72

Umbral de detección 3: códigos 0, 1 y 2 sin lesión de caries, códigos ≥ 3 con lesión de caries.

6.4. Reproducibilidad intraexaminador y correlación

6.4.1. Coeficientes Kappa

Se muestra una concordancia intra-examinador de las pruebas diagnósticas en la Tabla 5. Tanto el sistema ICDAS-II como el análisis con Micro-CT, presentaron una concordancia alta en el umbral 1 y perfecta en el umbral 3 en superficies oclusales y proximales. Todos los resultados tuvieron una significación alta ($p < 0,01$). Asimismo, no hubo diferencias entre los valores Kappas al comparar la concordancia entre las pruebas diagnósticas estudiadas ($p > 0,05$).

Tabla 5. Reproducibilidad intraexaminador con coeficiente Kappa de ICDAS-II y Micro-CT en el umbral 1 y 3 de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Coeficiente Kappa (95%, IC)			
		n1	Oclusal	n2	Proximal
ICDAS-II	D1	36	0,62 (0,31 – 0,92)†	72	0,79 (0,64 – 0,93)†
	D3		1 (1 – 1)†		1 (1 – 1)†
Micro-CT	T1	36	0,78 (0,56 – 1)†	72	0,74 (0,51 – 0,98)†
	T3		1 (1 – 1)†		1 (1 – 1)†

Concordancia Kappa de Cohen; IC, intervalo de confianza; nivel de significancia † $p < 0,05$; ‡ $p < 0,01$

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de concordancia.

Nivel de significancia $p < 0,05$. Test de Chi cuadrado.

6.4.2. Coeficientes de correlación

Se muestran los coeficientes de correlación de las pruebas diagnósticas ICDAS-II y Micro-CT frente al criterio histológico ERK en la Tabla 6. Correlaciones consideradas como “regular”, se presentaron con ICDAS tanto en oclusal como proximal y “buenas” con Micro-CT en proximal. Una correlación “muy buena” se observó con Micro-CT en superficies oclusales. Con excepción de ICDAS en superficies oclusales, las significancias fueron altas ($p < 0,01$).

Tabla 6. Coeficientes de correlación de Spearman de ICDAS-II y Micro-CT frente a criterios histológicos de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Coeficiente de correlación r_s (95%, IC)*			
	n1	Oclusal	n2	Proximal
ICDAS-II	36	0,40†	72	0,44‡
Micro-CT	36	0,83‡	72	0,65‡

Test de correlación de rangos de Spearman entre sistemas diagnósticos e histología de ERK.

IC, intervalo de confianza; nivel de significancia † $p < 0,05$; ‡ $p < 0,01$.

6.5. Indicadores de validación de ICDAS y Micro-CT

6.5.1. Sensibilidad

Se muestran los valores de sensibilidad o capacidad de una prueba para detectar la lesión de caries de ICDAS II y Micro-CT frente al gold estándar histológico (Tabla 7). En superficies oclusales, no hubo diferencias en las sensibilidades presentadas por ambas pruebas diagnósticas; sin embargo, ambas fueron estadísticamente superior en lesiones de esmalte (umbral 1) que en lesiones de dentina (umbral 3). Estas últimas con resultados bajos (50%). Resultado contrario sucedió en superficies proximales al encontrar una sensibilidad alta en el umbral 3 (100%) que respecto al umbral 1, en ambos criterios diagnósticos. Otra sensibilidad baja se observó con Micro-CT en el umbral 1 (50%), estadísticamente inferior a demás resultados de sensibilidad en proximal.

Tabla 7. Valores de sensibilidad de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	Sensibilidad (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	78,13 (62,24 – 94,01) ^b	66,67 (42,11 – 91,22) ^b
	D3	H3	50 (5,5 – 94,5) ^a	100 (83,33 – 100) ^c
Micro-CT	T1	H1	84,38 (70,23 – 98,52) ^b	50 (24,12 – 75,88) ^a
	T3	H3	50 (5,5 – 94,5) ^a	100 (83,33 – 100) ^c

IC, intervalo de confianza al 95%.

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de columnas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en oclusal n=36 y proximal n=72. Nivel de significancia p<0,05.

6.5.2. Especificidad

Se muestran los valores de especificidad o capacidad de una prueba para detectar superficies sanas con ICDAS II y Micro-CT frente al gold estándar histológico (Tabla 8). Lesiones de esmalte (umbral 1) se observaron con especificidades estadísticamente superiores, tanto en oclusal como proximal, con la prueba Micro-CT que con el sistema ICDAS-II. En el umbral 3, no hubo diferencias estadísticamente significativas en las pruebas estudiadas, sin embargo, hay una tendencia a presentarse con mejores valores de especificidad que respecto a especificidades en esmalte ($\geq 93\%$), en ambas pruebas diagnósticas. Solo ICDAS tuvo una especificidad baja de 50% en superficies oclusales

con el umbral 1.

Tabla 8. Valores de especificidad de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	Especificidad (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	50 (0 – 100) ^a	75,93 (63,6 – 88,25) ^a
	D3	H3	93,2 (80,5 – 97,9) ^c	100 (99,28 – 100) ^b
Micro-CT	T1	H1	75 (20,07 – 100) ^b	98,15 (93,63 – 100) ^b
	T3	H3	93,2 (80,5 – 97,9) ^c	100 (99,28 – 100) ^b

IC, intervalo de confianza al 95%.

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de columnas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en oclusal n=36 y proximal n=72. Nivel de significancia p<0,05.

6.5.3. Área bajo la curva

Valores de área bajo la curva ROC o capacidad de una prueba diagnóstica para discriminar superficies sanas o enfermas de cada prueba diagnóstica se muestran en la Tabla 9. Valores de AUC_{ROC} en el umbral 1 de ambas superficies oclusales y proximales, fueron mayores con Micro-CT que con ICDAS, aunque no fueron estadísticamente significativas. Solo en proximal, lesiones de dentina tuvieron valores estadísticamente superiores que respecto a lesiones de esmalte, en ambas pruebas diagnósticas.

Tabla 9. Valores de área bajo la curva de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	AUC _{ROC} (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	64,06 (34,85 – 93,27)	71,30 (58,7 – 83,89) ^{a†}
	D3	H3	71,05 (21,86 – 120,24)	100 (100 – 100) ^b
Micro-CT	T1	H1	79,69 (54,37 – 105,01)	74,07 (62,05 – 86,10) ^{a†}
	T3	H3	71,05 (21,86 – 120,24)	100 (100 – 100) ^b

AUC_{ROC}, área bajo la curva de ROC; IC, intervalo de confianza al 95%.

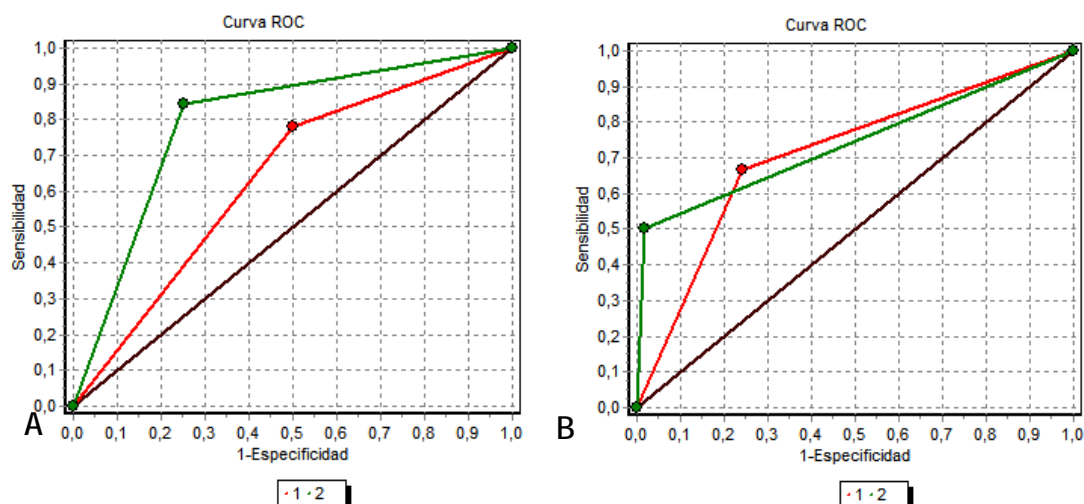
^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de columnas.

Test No Paramétrico. Nivel de significancia † p <0,05; ‡ p <0,01.

En el gráfico 1 y 2, se observa la representación del área bajo la curva de ROC en el umbral 1 y 3, respectivamente. Las figuras muestran los puntos de corte de mayor eficacia de sensibilidad y especificidad de cada prueba utilizada. En el umbral 1, tanto en superficies oclusales como proximales, se observa que Micro-CT presenta una mayor área debajo de la curva en comparación a ICDAS-II. Mientras que en el umbral 3, al

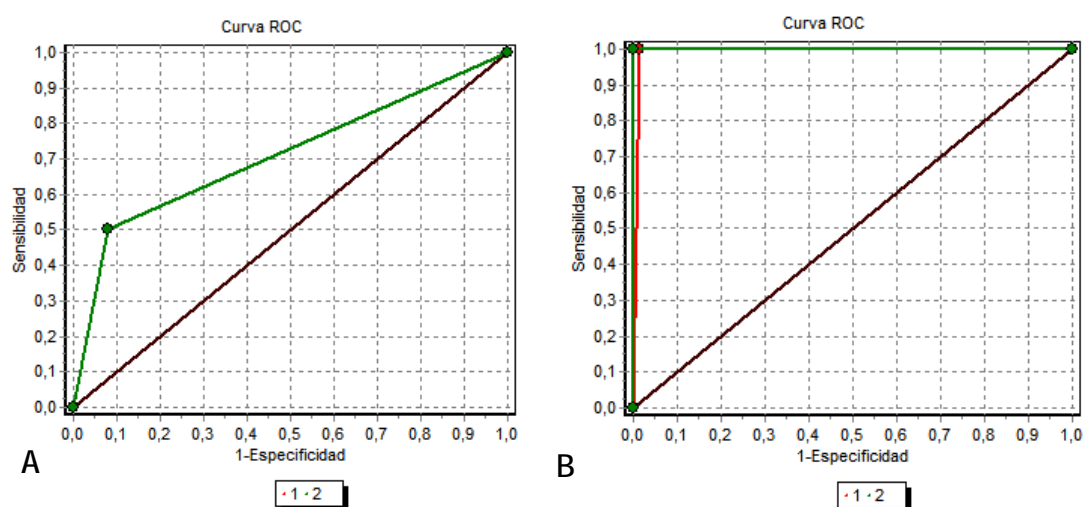
presentarse los mismos resultados de las pruebas estudiadas, las curvas se superponen, no obstante, se puede evidenciar un área bajo la curva perfecta en superficies proximales.

Gráfico 1. Curvas ROC de ICDAS-II y Micro-CT frente a criterios histológicos según umbral 1 de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.



A. Curvas ROC con umbral 1 en oclusal; B. Curvas ROC con umbral 1 en proximal. (1) Sistema ICDAS-II. (2) Micro-CT.

Gráfico 2. Curvas ROC de ICDAS-II y Micro-CT frente a criterios histológicos según umbral 3 de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.



A. Curvas ROC con umbral 3 en oclusal; B. Curvas ROC con umbral 3 en proximal. (1) Sistema ICDAS-II. (2) Micro-CT.

6.5.4. Valor predictivo positivo

Se muestran los valores predictivos positivos o capacidad de predecir lesiones de caries cuando la prueba diagnóstica brinda un resultado positivo de la prueba en estudio frente al gold estándar histológico (Tabla 10). Solo en superficies proximales para lesiones de esmalte, Micro-CT fue estadísticamente superior que respecto a ICDAS, quien presentó un valor bajo. Lesiones de esmalte en oclusal, se presentaron altos con ambas pruebas ($\geq 92\%$), y fueron estadísticamente superiores a lesiones de dentina. Los valores de VPP proximal en lesiones de dentina fueron de 100%.

Tabla 10. Valor predictivo positivo de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	VPP (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	92,59 (80,86 – 100) ^b	48 (26,42 – 69,58) ^a
	D3	H3	16,7 (1,8 – 69) ^a	100 (83,33 – 100) ^b
Micro-CT	T1	H1	96,43 (87,77 – 100) ^b	90 (66,41 – 100) ^b
	T3	H3	16,7 (1,8 – 69) ^a	100 (83,33 – 100) ^b

VPP, valor predictivo positivo; IC; intervalo de confianza al 95%.

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de columnas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en oclusal n=36 y proximal n=72. Nivel de significancia p<0,05.

6.5.5. Valor predictivo negativo

Valores predictivos negativos o capacidad de predecir superficies sin lesión de caries cuando la prueba diagnóstica da un resultado negativo (Tabla 11). ICDAS-II y Micro-CT no presentaron diferencias significativas en esmalte o dentina oclusal o proximal. Valores de VPN fueron estadísticamente superiores en el umbral 3 que en el umbral 1. Solo VPN en oclusal presentó valores bajos con ambas pruebas (<40%).

Tabla 11. Valor predictivo negativo de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de	Histología de	VPN (95%, IC)
---------	-----------	---------------	---------------

detección		ERK	Oclusal	Proximal
		Umbral		
ICDAS-II	D1	H1	22,22 (0 – 54,94) ^a	87,23 (76,63 – 97,84) ^a
	D3	H3	98,6 (87,7 – 99,9) ^b	100 (99,28 – 100) ^b
Micro-CT	T1	H1	37,5 (0 – 77,3) ^a	85,48 (75,91 – 95,06) ^a
	T3	H3	98,6 (87,7 – 99,9) ^b	100 (99,28 – 100) ^b

VPN, valor predictivo negativo; IC; intervalo de confianza al 95%.

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de columnas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en oclusal n=36 y proximal n=72. Nivel de significancia p<0,05.

6.5.6. Índice de validez

El índice de validez - precisión o exactitud - de aciertos de lesión o no lesión de caries de una prueba diagnóstica frente al gold estándar histológico se presenta en la tabla 12. Aunque no hubo diferencias significativas, Micro-CT presentó valores más altos en el umbral 1, tanto oclusal como proximal ($\geq 83\%$). Los valores de IV fueron altos en el umbral 3 para ambas pruebas diagnósticas, siendo mayores a 92%.

Tabla 12. Índice de validez de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	IV (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	75 (59,47 – 90,53)	73,61 (72,64 – 84,49) ^a
	D3	H3	92,1 (79,2 – 97,3)	100 (99,31 – 100) ^b
Micro-CT	T1	H1	83,33 (69,77 – 96,9)	86,11 (77,43 – 94,79) ^a
	T3	H3	92,1 (79,2 – 97,3)	100 (99,31 – 100) ^b

IV, índice de validez; IC; intervalo de confianza al 95%.

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de columnas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en oclusal n=36 y proximal n=72. Nivel de significancia p<0,05.

6.5.7. Índice de Youden

El índice de Youden o capacidad de eficiencia de una prueba reflejada en sus valores de sensibilidad y especificidad entre los sistemas diagnósticos frente al gold estándar histológico se presenta en la Tabla 13. Valores perfectos de 1 se hallaron en la detección de caries proximal de dentina (umbral 3) con ambas pruebas estudiadas. En el umbral 1 para ambas superficies, Micro-CT obtuvo mejores valores que respecto a ICDAS-II. Valor de IJ más bajo se observó con ICDAS-II en superficies oclusales del umbral 1 (0,28).

Tabla 13. Índice de Youden de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de

detección de lesiones de caries oclusales y proximales.				
Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	IJ (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	0,28 (-0,23 – 0,79)	0,43 (0,18 – 0,67)
	D3	H3	0,4 (-0,28 – 1,12)	1 (1 – 1)
Micro-CT	T1	H1	0,59 (0,15 – 1,04)	0,48 (0,25 – 0,72)
	T3	H3	0,4 (-0,28 – 1,12)	1 (1 – 1)

IJ, índice de Youden; IC; intervalo de confianza al 95%.

6.5.8. Razón de verosimilitud positiva

Razón de verosimilitud positiva o probabilidad de riesgo de caries en enfermos se presenta en la Tabla 14. Micro-CT presentó una valoración superior de RV+ más alto que en relación a ICDAS-II, en el umbral 1 de caries de esmalte tanto en oclusal como proximal. Asimismo, su mayor incremento considerado amplio se presentó en proximal. En el umbral 3, ambas pruebas diagnósticas tuvieron RV+ de incremento moderado en oclusal y de incremento amplio en proximal.

Tabla 14. Razón de verosimilitud positiva de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK	RV+ (95%, IC)	
		Umbral	Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	1,56 (0,58 – 4,23)	2,77 (1,56 – 4,92)
	D3	H3	7,4 (0,74 – 73,56)	122,5 (7,55 – 1987,79)
Micro-CT	T1	H1	3,38 (0,61 – 15,55)	27 (3,67 – 198,69)
	T3	H3	7,4 (0,74 – 73,56)	122,5 (7,55 – 1987,79)

RV+, razón de verosimilitud positiva; IC; intervalo de confianza al 95%.

6.5.9. Razón de verosimilitud negativa

Razón de verosimilitud negativa o probabilidad de resultado negativo de “no lesión de caries” al examinar con las prueba diagnósticas ICDAS y Micro-CT frente a la prueba de referencia histológica, se presenta en la Tabla 15. Valores de RV- más cercanos a 0, se observaron en proximal del umbral 3 (lesiones de esmalte) con ambas pruebas diagnósticas y oclusal del umbral 1 con Micro-CT. Todos los valores de RV-, en ambos umbrales y ambas superficies oclusales y proximales presentaron valores inferiores a 0,54.

Tabla 15. Razón de verosimilitud negativa de ICDAS-II y Micro-CT frente al gold estándar histológico según umbrales de detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Umbral de detección	Histología de ERK Umbral	RV- (95%, IC)	
			Oclusal	Proximal
ICDAS-II	D1	H1	0,44 (0,13 – 1,42)	0,44 (0,22 – 0,86)
	D3	H3	0,54 (0,07 – 3,9)	0,13 (0,01 – 1,69)
Micro-CT	T1	H1	0,21 (0,08 – 0,56)	0,51 (0,32 – 0,81)
	T3	H3	0,54 (0,07 – 3,9)	0,13 (0,01 – 1,69)

RV-, razón de verosimilitud negativa; IC; intervalo de confianza al 95%.

6.5.10. Probabilidades post-prueba

Las probabilidades post-prueba de lesiones de caries cuando la prueba resulta positiva (PPPP) o negativa (PPPN) considerando una estimación de lesión de caries poblacional de 72% (142, 146) se muestra en la Tabla 16. Todas las probabilidades post prueba positivas fueron superiores a 89% con Micro-CT y mayor a 80% con ICDAS-II, asimismo, fueron mejores en el umbral 3 (lesiones de dentina) que en el umbral 1 (lesiones de esmalte). Valores de PPPN no superó el 57%, siendo más bajo en proximal del umbral 3 (lesiones de dentina) con ambas pruebas diagnósticas y en superficies oclusales con umbral 1 de Micro-CT.

Tabla 16. Probabilidades post-prueba de ICDAS II y Micro-CT frente a criterios histológicos en umbrales 1 y 3 para detección de lesiones de caries oclusales y proximales.

Sistema	Oclusal		Proximal	
	Umbral 1	Umbral 3	Umbral 1	Umbral 3
ICDAS				
PPPP	80,1%	95%	87,7%	99,7%
PPPN	52,9%	58%	53%	24,5%
Micro-CT				
PPPP	89,7%	95%	98,6%	99,7%
PPPN	34,9%	58%	56,7%	24,5%

PPPP, probabilidad post-prueba positiva; PPPN, probabilidad post-prueba negativa.

Probabilidad post-prueba estimada: 72%

6.6. Indicadores de validación de ICDAS frente a Micro-CT

Se muestran indicadores de validación del sistema ICDAS-II considerando como pruebas de referencia o gold estándar a Micro-CT e histología ERK en el umbral 1 de superficies oclusales (Tabla 17) y proximales (Tabla 18). En superficies oclusales, aunque se mostraron más indicadores con valores superiores con histología ERK que

con Micro-CT respecto a indicadores de especificidad, AUC_{ROC} , VPP, IJ y $RV+$, no hubo diferencias estadísticamente significativas de los indicadores entre ambas pruebas de referencia en superficies oclusales del umbral 1 o lesiones de esmalte. Al contrario sucedió con los valores de VPN y $RV-$ que fueron mayores con Micro-CT que con histología de ERK.

En superficies proximales, también se mostró más indicadores superiores con histología que con Micro-CT (S, EX, AUC_{ROC} , VPP, IV, IJ y $RV+$), sin embargo esta diferencia solo fue estadísticamente significativa respecto a la sensibilidad y VPP.

Al haberse clasificado de la misma forma los códigos ICDAS-II y Micro-CT en lesiones de dentina oclusales y proximales (umbral 3), no fue necesaria la comparación de Micro-CT y el análisis histológico como estándar de oro, asumiendo que generarán los mismos resultados en ambas pruebas.

Tabla 17. Indicadores de validación de ICDAS-II en relación al análisis de gold estándar histológico con Micro-CT e histología ERK en el umbral 1 de superficies oclusales.

Indicadores de validación en oclusal (95%, IC)	Micro-CT	Histología ERK
Sensibilidad	78,56 (61,59 – 95,56)	78,13 (62,24 – 94,01)
Especificidad	37,5 (0 – 77,3)	50 (0 – 100)
AUC_{ROC}	58,04 (38,51 – 77,57)	64,06 (34,85 – 93,27)
VPP	81,48 (64,98 – 97,99)	92,59 (80,86 – 100)
VPN	33,33 (0 – 69,69)	22,22 (0 – 54,94)
IV	69,44 (53,01 – 85,88)	75 (59,47 – 90,53)
IJ	0,16 (-0,21 – 0,53)	0,28 (-0,23 – 0,79)
$RV+$	1,26 (0,71 – 2,22)	1,56 (0,58 – 4,23)
$RV-$	0,57 (0,18 – 1,79)	0,44 (0,13 – 1,42)

IC; intervalo de confianza al 95%.

a,b,c Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de filas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en oclusal n=36. Nivel de significancia $p<0,05$.

Tabla 18. Indicadores de validación de ICDAS-II en relación al análisis de gold estándar histológico con Micro-CT e histología ERK en el umbral 1 de superficies proximales.

Indicadores de validación en oclusal (95%, IC)	Micro-CT	Histología ERK
Sensibilidad	50 (14,01 – 85,99) ^a	66,67 (42,11 – 91,22) ^b
Especificidad	67,74 (55,30 – 80,18)	75,93 (63,6 – 88,25)
AUC_{ROC}	58,87 (41,52 – 76,23)	71,30 (58,7 – 83,89)
VPP	20 (2,32 – 37,68) ^a	48 (26,42 – 69,58) ^b
VPN	89,36 (79,48 – 99,24)	87,23 (76,63 – 97,84)
IV	65,28 (53,59 – 76,27)	73,61 (72,64 – 84,49)
IJ	0,18 (-0,15 – 0,51)	0,43 (0,18 – 0,67)
$RV+$	1,55 (0,76 – 3,18)	2,77 (1,56 – 4,92)
$RV-$	0,74 (0,39 – 1,4)	0,44 (0,22 – 0,86)

IC; intervalo de confianza al 95%.

^{a,b,c} Letras distintas muestran diferencias significativas entre valores de filas.

Test de McNemar. Grupos emparejados en proximal n=72. Nivel de significancia $p<0,05$.

DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

Cuando se desarrollan nuevos métodos diagnósticos, es necesario examinar su precisión respecto de otros métodos establecidos. El examen visual se considera como el método diagnóstico convencional tanto para la detección de lesiones de caries oclusales y proximales. También las radiografías, podrían complementar el examen clínico (93, 123, 148), aunque para algunos autores esta combinación no sugiere un aumento en la precisión diagnóstica. (124, 133, 142)

De los métodos de detección tradicionales, específicamente, ICDAS-II se señala como el método más sensible para la detección de esmalte y dentina. Sus características detallan etapas progresivas de lesión que parecen ser prometedoras para la evaluación clínica (93, 119, 120, 129, 128, 130). No obstante otras características se requieren para su precisión como el entrenamiento del examinador y el seguimiento de la progresión de la caries. Ante ello ha surgido el desarrollo de nuevas tecnologías para la detección de caries. (126, 134, 149)

Micro-CT es un método modificado de la tomografía computarizada. Está siendo utilizado como método de detección de caries porque se sugiere su mejor detección diagnóstica debido al mayor rendimiento de la visualización de la desmineralización de lesiones de caries de esmalte y dentina (96). Un limitado número de estudios han evaluado Micro-CT frente al examen visual con ICDAS-II para la detección de lesiones de caries proximales (95, 127). A pesar de sus características, no existe un soporte que lo indique como alternativa del gold estándar histológico.

El propósito del presente estudio fue comparar la validez *in vitro* de ICDAS-II y Micro-CT para la detección de caries oclusal y proximal usando el gold estándar histológico. Por otro lado, también se buscó evaluar el potencial de Micro-CT como sustituto del análisis histológico.

Para mejorar la exactitud de los datos de concordancia intra-examinador, las repeticiones fueron realizadas en el total de muestras de estudio y en un lapso no mayor a una semana (120, 123, 125, 126, 128, 129, 130, 132-134). Otros estudios repitieron las observaciones en menos del 50% de muestras (128, 130, 132) y en rangos de tiempo de dos semanas (95, 121, 122, 124, 127). Según Jablonski y cols. (147), no existe un impacto del tiempo transcurrido entre observaciones en la reproducibilidad de examinadores.

Otro de los aspectos considerados, es la observación tanto de ICDAS-II como Micro-CT, realizadas por un único examinador. Esto difiere a otros estudios que solo muestran resultados inter-examinadores de entre 2 a 4 examinadores que puede disminuir los resultados de concordancia para ICDAS-II (95, 119-127, 130, 131, 133, 134) y Micro-CT (95, 127). Asimismo, los resultados fueron calculados considerando umbrales de detección, criterio que no ha sido considerado por los antecedentes de estudio.

Según los resultados del estudio, el acuerdo intraexaminador de ICDAS-II y Micro-CT resultaron altas para la detección de lesiones de caries de esmalte y dentina oclusales y proximales ($Kappa \geq 0,62$). A la detección de lesiones de dentina, los resultados mejoraron en ambas pruebas diagnósticas siendo valoradas como perfectas ($Kappa = 1$). Es posible que el grado de avance de caries hacia dentina resulte mejor observado que en comparación a lesiones iniciales de esmalte.

A pesar de que la concordancia intra-examinador de Micro-CT fue mayor en superficies oclusales pero menor en superficies proximales que en relación al sistema ICDAS-II, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Sin embargo, podría sugerirse que el examen visual con ICDAS-II mejoraría sus valores kappa en superficies proximales, al presentar una morfología menos compleja que respecto a superficies oclusales.

De los valores de concordancia intra-examinador de ICDAS-II, hubo estudios similares con valores kappa altos (119, 126, 129, 131) o muy altos (121-125, 128, 130). No obstante, algunos estudios tuvieron valores inferiores (120, 133) y otros no mostraron resultados kappa (95, 127, 132, 134). De los dos antecedentes realizados con Micro-CT

(95, 127), ambos solo muestran el acuerdo inter-examinador y aunque fue valorado como muy alto ($\kappa \geq 0,81$), no fue posible compararlos con nuestros resultados.

La correlación fue mayor con Micro-CT ($r \geq 0,65$) que con ICDAS-II ($r \approx 0,40$). Todas son valoradas como “regular a buena”, con excepción de Micro-CT en oclusal (“muy bueno”). Esto sugiere una buena performance para detectar caries con ambos sistemas. Otros autores también muestran resultados similares con ICDAS-II (120, 123, 125, 127, 129, 134). Sin embargo, otros estudios han hallado valores más altos (95, 121, 122, 126, 128). Respecto a Micro-CT, los estudios muestran mejores valores proximales (“muy buenos”) que lo señalado en este estudio (95, 127). No hay investigaciones de Micro-CT en oclusal, así este estudio presenta el primer resultado de correlación en dichas superficies.

En general, los indicadores de validación de lesiones de caries de esmalte y dentina (umbral 1) en superficies oclusales obtuvieron mejores resultados con Micro-CT que con ICDAS-II. Así se muestran resultados de sensibilidad, AUC_{ROC} , valor predictivo positivo y exactitud, superiores al 80% con Micro-CT y 64% con ICDAS-II. Solo la especificidad resultó estadísticamente superior con Micro-CT que con ICDAS-II (75% vs. 50%). También valores predictivos negativos en ambas pruebas fueron inferiores al 50%. Esto puede haber sucedido por la alta prevalencia de caries muestral (89%) que tiende a formar más falsos negativos que disminuyen los mencionados valores.

No fue posible comparar resultados de indicadores de validación oclusal en el umbral 1 de Micro-CT respecto a otros estudios, debido a que no se encuentran investigaciones al respecto. A la evaluación solo de ICDAS-II, sus resultados estuvieron acordes a la mayoría de indicadores de otros estudios pero difieren en cuanto a obtener una menor especificidad (119, 121, 122, 124-126, 128-132). También valores predictivos negativos resultaron inferiores que respecto a otros autores (121, 122, 126, 128, 130, 132). Esto puede haber sucedido por la baja prevalencia de caries observada en los estudios realizados ($\leq 44\%$).

Sobre la evaluación de la validación en superficies proximales del umbral 1, fue más frecuente hallar mejores resultados con Micro-CT ($>74\%$) que con ICDAS-II ($>66\%$). Solo resultaron inferiores al 50%, la sensibilidad con Micro-CT y el valor predictivo

positivo con ICDAS-II siendo estadísticamente inferiores respecto a la otra prueba. Este último resultado puede haber disminuido, producto de una baja prevalencia de caries de la muestra (25%) que aumenta el número de falsos positivos.

De los indicadores mencionados antes, los antecedentes de Micro-CT tienen resultados similares a este estudio (95, 127). Únicamente, la especificidad se mostró inferior a los estudios señalados. Con ICDAS-II, la mayoría de estudios mostraron similitud en cuanto a sensibilidad, especificidad, área bajo la curva y exactitud (95, 119, 127, 133, 134), sin embargo, obtuvieron mejores resultados de valores predictivos positivos que los de este estudio (>74%). En cuanto al valor predictivo negativo, nuestro resultado fue mayor que de otros estudios cuyos resultados no superaron el 57%. (119, 127, 133, 134)

Iguales resultados con ambas pruebas se encontraron con los indicadores de validación de lesiones a nivel de dentina (umbral 3) tanto en oclusal (probabilidades >92%) como proximal (probabilidad =100%). Se exceptuaron de esto, la sensibilidad y valores predictivos negativos oclusales que resultaron inferiores al $\leq 50\%$. Con ICDAS-II, la mayoría de indicadores fueron similares a otros estudios aunque inferiores en sensibilidad y valores predictivos negativos. (119, 121, 122, 124, 126, 128-130)

La evaluación de caries de dentina en superficies proximales, también resultaron con indicadores de validación óptimos en comparación a otros estudios realizados sobre Micro-CT (95, 127) y de ICDAS-II (119, 133, 134). Otros autores encontraron probabilidades inferiores al de este estudio en sus valores predictivos positivos (95, 133, 134), especificidad (95) y sensibilidad (127). También es posible que la prevalencia de caries haya influenciado en el menor resultado de estos indicadores.

Dentro de las limitaciones que pueda presentar un estudio *in vitro*, los resultados evaluados muestran, en general, buenos resultados para Micro-CT y algo menos para ICDAS-II. Sin embargo, es necesario señalar que varios de los indicadores de validación podrían estar influenciados por la prevalencia de caries de la muestra alta o baja que podría provocar el aumento de falsos negativos o falsos positivos, respectivamente.

Los sistemas evaluados representan evaluaciones ordinales (ICDAS-II y Micro-CT) que son convertidas a un patrón de oro dicotómico para ser confrontados con el histológico. Este método reduce la naturaleza dinámica de la misma, pasando de un análisis continuo de progresión de caries a solo dos etapas. Por tanto, los umbrales 1 y 3 pueden no reflejar los cortes óptimos de caries, ello asumiendo que son limítrofes a susceptibles de error. Por ejemplo, ante situaciones de clasificación entre sano o caries inicial de esmalte y en la interfaz de códigos 2 y 3 sobre el límite amelodentinario. (128, 130)

El análisis histológico puede ser observado según diversos criterios. Aunque todas parten del método Downer (150), algunas modificaciones han surgido, producto de la controversia generada al evaluar el límite amelodentinario. Este estudio consideró el criterio Ekstrand y cols. (136) porque integra en el código 2 de caries, la mitad interna de esmalte y el tercio externo de dentina. Aunque ha sido menos usado por los antecedentes de estudios, se considera que no hay diferencias sustanciales entre los métodos Downer y ERK. (93)

Dado que el estudio fue realizado por un solo examinador en cada método, genera dificultad en la interpretación de la generalización de los resultados. Por tanto, es necesario evaluar los resultados por varios examinadores (134). Esta interpretación también puede ser afectada a la evaluación solo de dientes permanentes. Si bien molares permanentes y deciduos son fisiológicamente similares, podrían tener diferencias en sus resultados (129, 130). De los estudios en ICDAS-II, fueron realizados tanto en permanentes (95, 120, 123, 125, 127, 128, 131-134) como en deciduos (119, 121, 122, 124, 126, 129, 130). No obstante, Micro-CT solo fue realizado en permanentes. (95, 127)

Ante la posibilidad de influencia de prevalencia de caries de la muestra en los valores predictivos, se incluyó el cálculo de probabilidades post-prueba a fin de obtener nuevos resultados. En base a la información disponible, se consideró una prevalencia de caries poblacional de 72% (142, 146). Estos resultados solo ha sido realizado por Neuhaus y cols. en 2011 y 2014 (124, 133) respecto a criterios ICDAS-II. Por tanto, este estudio se convierte en el primer reporte sobre probabilidades post-prueba de Micro-CT en superficies oclusales y proximales.

Los resultados post-prueba indican que las probabilidades de detección de caries oclusales o proximales fueron superiores al 89% con Micro-CT y al 80% con ICDAS-II, tanto para lesiones de esmalte como de dentina. Por tanto, ambas pruebas se muestran confiables para detectar lesiones de caries. Sin embargo, a la detección de dientes sanos, se observa que las probabilidades no superaron el 60%, presentando debilidad a la detección de no enfermedad de caries dental. Neuhaus y cols. (124, 133) también encontró un resultado similar respecto a ICDAS-II en el umbral 3 de superficies proximales.

Adicionalmente a los resultados de validación señalados antes y conforme a los objetivos del estudio, se buscaba evaluar la capacidad de Micro-CT como gold estándar capaz de mejorar al criterio histológico. Esto en razón de: a) No expone la integridad del diente por lo que permite el análisis in vivo y un seguimiento de lesiones de caries. b) Evalúa múltiples secciones, incluso en aquellos sitios de lesiones pequeñas que pudieran pasar desapercibidos en algún corte histológico. C) Permite la reevaluación las veces necesarias (89, 95, 127).

Los resultados de este estudio muestran que Micro-CT no cumple el requisito para mejorar el gold estándar histológico en el umbral 1, pero si para lesiones proximales de dentina (umbral 3). Esto puede atribuirse a las deficiencias señaladas sobre la identificación de primeros signos de desmineralización con las técnicas radiográficas, asimismo, la calidad del sistema tomográfico para la elaboración de imágenes en tres dimensiones. Esto significa que las debilidades se dan en razón del grado de desmineralización más que por la extensión de la lesión (151).

Según lo antes señalado, los resultados de Micro-CT en superficies proximales como gold estándar de lesiones de caries concuerdan con el estudio de Soviero y cols. (127), quien obtuvo resultados óptimos señalándola como alternativa de referencia al criterio histológico. Sin embargo, el estudio de Mitropoulos y cols. (95) no encontró que Micro-CT presentará resultados comparables al histológico. Esto puede ser explicado por las diferencias respecto a este estudio en cuanto al análisis histológico utilizado (Downer vs. Ekstrand), la cantidad de muestra (40 vs. 64), el número de examinadores (2 vs. 1) y la prevalencia de lesión (80 vs. 4%).

Finalmente, según lo evaluado en la presente investigación y lo mencionado por las referencias de estudios, no se espera que dos pruebas sean iguales, sin embargo, se debe evaluar a fondo hasta cuanto deben tolerarse ciertos desacuerdos que puedan generar problemas en la práctica clínica o en la evaluación de datos.

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

1. Los indicadores de validación de lesiones de caries de esmalte y dentina de superficies oclusales y proximales obtuvieron mejores resultados con los criterios de Micro-CT que con ICDAS-II. Respecto a lesiones de caries de dentina fueron iguales entre ambas pruebas.
2. En general, los parámetros de validación de caries de esmalte y dentina oclusales y proximales fueron superiores al 74% con Micro-CT y 64% con ICDAS-II. Respecto a lesiones de dentina, ambas pruebas obtuvieron probabilidades superiores al 90%.
3. La concordancia intra-examinador fueron altas en ambas pruebas, siendo mayores con Micro-CT ($k \geq 74$) que con ICDAS-II ($k \geq 64$). Respecto a coeficientes de correlación resultaron buenos a muy buenos con Micro-CT y regulares con ICDAS II.
4. Las probabilidades post-prueba para detectar lesiones de caries fueron superiores al 89% con Micro-CT y 80% con ICDAS-II. La probabilidad de detectar superficies sin caries no superaron el 57% en ambas pruebas.
5. Micro-CT puede ser utilizado como prueba de referencia para la detección de lesiones de caries proximales en dentina de dientes permanentes.

9. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Kuhn TS. The structure of scientific revolutions. 2nd ed., enl. ed. Chicago : University of Chicago Press,; 1970.
- (2) Kindi V. Kuhn's "The structure of scientific revolutions" revisited. 1st. ed. ed. New York ; London : Routledge,; 2012.
- (3) Thylstrup A. Caries. Barcelona [etc.] : Doyma,; 1988.
- (4) Henostroza Haro G. Caries dental : principios y procedimientos para el diagnóstico. [1ª ed.] ed. Lima : Universidad Peruana Cayetano Heredia,; 2007.
- (5) Ring ME. W. D. Miller. The pioneer who laid the foundation for modern dental research. N Y State Dent J 2002 Feb;68(2):34-37.
- (6) Orland FJ, Blayney JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, et al. Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms. J Dent Res 1954 Apr;33(2):147-174.
- (7) Ruby JD, Cox CF, Akimoto N, Meada N, Momoi Y. The Caries Phenomenon: A Timeline from Witchcraft and Superstition to Opinions of the 1500s to Today's Science. Int J Dent 2010;2010:10.1155/2010/432767. Epub 2010 Jul 12.
- (8) Cuenca Sala E. Odontología preventiva y comunitaria : principios, métodos y aplicaciones. 4a ed. ed. Barcelona : ElsevierMasson,; 2013.
- (9) Bradshaw DJ, Lynch RJ. Diet and the microbial aetiology of dental caries: new paradigms. Int Dent J 2013 Dec;63 Suppl 2:64-72.
- (10) Popper KR. La lógica de la investigación científica. Madrid : Tecnos,; 1967.
- (11) Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries Res 2004 May-Jun;38(3):182-191.
- (12) Negroni M. Microbiología estomatológica : fundamentos y guía práctica. 2ª ed. ed. Buenos Aires ; Madrid : Médica Panamericana,; 2009.
- (13) Kidd E. Dental caries : The disease and its clinical management. 2nd ed. ed. Oxford, UK : Blackwell,; 2008.
- (14) Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res 1994 Jul;8(2):263-271.
- (15) Sapp J. Evolution by association : a history of symbiosis. New York [etc.] : Oxford University Press,; 1994.
- (16) Rosebury T. Microorganisms indigenous to man. New York, [etc.] : McGraw-Hill,; 1962.
- (17) Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 2002 Sep;8(9):881-890.
- (18) Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. Caries Res 2004 May-Jun;38(3):204-211.
- (19) Carounanidy U, Sathyanarayanan R. Dental caries: A complete changeover (Part II)-Changeover in the diagnosis and prognosis. Front Cell Infect Microbiol 2009 Jul 16;12(3):87-100.
- (20) Rosier BT, De Jager M, Zaura E, Krom BP. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? J Contemp Dent Pract 2014 Mar 1;4:92.
- (21) Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. Caries Res 2008;42(6):409-418.
- (22) Kidd E. The implications of the new paradigm of dental caries. J Dent 2011 Dec;39 Suppl 2:S3-8.
- (23) Chen L, Wen YM. The role of bacterial biofilm in persistent infections and control strategies. Int J Oral Sci 2011 Apr;3(2):66-73.
- (24) Rode Sde M, Gimenez X, Montoya VC, Gomez M, Blanc SL, Medina M, et al. Daily biofilm control and oral health: consensus on the epidemiological challenge--Latin American Advisory Panel. Braz Oral Res 2012;26 Suppl 1:133-143.
- (25) Meskele M, Mekonnen W. Factors affecting women's intention to use long acting and permanent contraceptive methods in Wolaita Zone, Southern Ethiopia: a cross-sectional study. BMC Womens Health 2014 Sep 12;14:109-6874-14-109.
- (26) Thakur R, Singh MG, Chaudhary S, Manuja N. Effect of mode of delivery and feeding practices on acquisition of oral Streptococcus mutans in infants. Int J Paediatr Dent 2012 May;22(3):197-202.
- (27) Carletto Korber FP, Cornejo LS, Gimenez MG. Early acquisition of Streptococcus mutans for children. Acta Odontol Latinoam 2005;18(2):69-74.
- (28) Lif Holgerson P, Harnevik L, Hernell O, Tanner AC, Johansson I. Mode of birth delivery affects oral microbiota in infants. J Dent Res 2011 Oct;90(10):1183-1188.
- (29) Li Y, Caufield PW, Dasanayake AP, Wiener HW, Vermund SH. Mode of delivery and other maternal factors influence the acquisition of Streptococcus mutans in infants. J Dent Res 2005 Sep;84(9):806-811.
- (30) Holgerson PL, Vestman NR, Claesson R, Ohman C, Domellof M, Tanner AC, et al. Oral microbial profile discriminates breast-fed from formula-fed infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2013 Feb;56(2):127-136.
- (31) Zaura E, Nicu EA, Krom BP, Keijsers BJ. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. Front Cell Infect Microbiol 2014 Jun 26;4:85.
- (32) Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005 Nov;43(11):5721-5732.
- (33) Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. BMC Oral Health 2006 Jun 15;6 Suppl 1:S14.

- (34) de Soet JJ, Nyvad B, Kilian M. Strain-related acid production by oral streptococci. *Caries Res* 2000 Nov-Dec;34(6):486-490.
- (35) McLean JS, Fansler SJ, Majors PD, McAteer K, Allen LZ, Shirliff ME, et al. Identifying low pH active and lactate-utilizing taxa within oral microbiome communities from healthy children using stable isotope probing techniques. *PloS one* 2012;7(3):e32219.
- (36) Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004 May-Jun;38(3):247-253.
- (37) Benn AM, Thomson WM. Saliva: an overview. *N Z Dent J* 2014 Sep;110(3):92-96.
- (38) Okahashi N, Nakata M, Terao Y, Isoda R, Sakurai A, Sumitomo T, et al. Oiki,E.;Kawabata,S.;Ooshima,T.; Pili of oral *Streptococcus sanguinis* bind to salivary amylase and promote the biofilm formation. *Microb Pathog* 2011 Mar-Apr;50(3-4):148-154.
- (39) Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Silva CM, Rodrigues LK, Nobre-dos-Santos M. Early childhood caries and mutans streptococci: a systematic review. *Oral Health Prev Dent* 2010;8(1):59-70.
- (40) Giacaman RA, Torres S, Gomez Y, Munoz-Sandoval C, Kreth J. Correlation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* colonization and ex vivo hydrogen peroxide production in carious lesion-free and high caries adults. *Arch Oral Biol* 2015 Jan;60(1):154-159.
- (41) Zhao W, Li W, Lin J, Chen Z, Yu D. Effect of sucrose concentration on sucrose-dependent adhesion and glucosyltransferase expression of *S. mutans* in children with severe early-childhood caries (S-ECC). *Nutrients* 2014 Sep 9;6(9):3572-3586.
- (42) Tahmourespour A, Salehi R, Kasra Kermanshahi R. Lactobacillus Acidophilus-Derived Biosurfactant Effect on GTFB and GTFC Expression Level in *Streptococcus Mutans* Biofilm Cells. *Braz J Microbiol* 2011 Jan;42(1):330-339.
- (43) Wu R, Wu H. Una chaperona molecular media un complejo enzimático de dos proteínas y glicosilación de adhesinas estreptocócicas rica en serina. *J Biol Chem* 2011 Oct 7;286(40):34923-34931.
- (44) Kalesinskas P, Kacergius T, Ambrozaitis A, Peciulienė V, Ericson D. Reducing dental plaque formation and caries development. A review of current methods and implications for novel pharmaceuticals. *Stomatologija* 2014;16(2):44-52.
- (45) Branda SS, Vik Å, Friedman L, Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol* 2005 1;13(1):20-26.
- (46) Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, Hunter N. Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *J Clin Microbiol* 2002 May;40(5):1698-1704.
- (47) Badet C, Thebaud NB. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: a review of literature 2008 2 38 48. *Open Microbiol J* 2008;2:38-48.
- (48) Guo L, Shi W. Salivary biomarkers for caries risk assessment. *J Calif Dent Assoc* 2013 Feb;41(2):107-9, 112-8.
- (49) Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol* 2014;63(2):127-135.
- (50) Shiroza T, Kuramitsu HK. Sequence analysis of the *Streptococcus mutans* fructosyltransferase gene and flanking regions. *J Bacteriol* 1988 Feb;170(2):810-816.
- (51) Moye ZD, Zeng L, Burne RA. Fueling the caries process: carbohydrate metabolism and gene regulation by *Streptococcus mutans*. *J Oral Microbiol* 2014 Sep 5;6:10.3402/jom.v6.24878. eCollection 2014.
- (52) Ilie O, van Loosdrecht MC, Picioreanu C. Mathematical modelling of tooth demineralisation and pH profiles in dental plaque. *J Theor Biol* 2012 Sep 21;309:159-175.
- (53) Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol* 2008 Apr;46(4):1407-1417.
- (54) Gupta P, Gupta N, Pawar AP, Birajdar SS, Natt AS, Singh HP. Role of sugar and sugar substitutes in dental caries: a review. *ISRN Dent* 2013 Dec 29;2013:519421.
- (55) Parisotto TM, King WF, Duque C, Mattos-Graner RO, Steiner-Oliveira C, Nobre-Dos-Santos M, et al. Immunological and microbiologic changes during caries development in young children. *Caries Res* 2011;45(4):377-385.
- (56) Shaffer JR, Wang X, McNeil DW, Weyant RJ, Crout R, Marazita ML. Genetic Susceptibility to Dental Caries Differs between the Sexes: A Family-Based Study. *Caries Res* 2015;49(2):133-140.
- (57) Saban A, Ridic O, Karamelic J, Saban O, Delic-Sarac M, Džananovic N, et al. Assessments of the socioeconomic status and diet on the prevalence of dental caries at school children in central bosnian canton. *Mater Sociomed* 2014 Oct;26(5):309-312.
- (58) Fierro Monti C, Perez Flores M, Brunotto M. Simple predictive model for early childhood caries of chilean children. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 2014;71(3):105-112.
- (59) Gonzalez-Cabezas C. The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am* 2010 Jul;54(3):469-478.
- (60) Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11(4):481-495.
- (61) Kudiyirickal MG, Ivancakova R. Early enamel lesion part II. Histo-morphology and prevention. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2008;51(3):151-156.
- (62) Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc* 2003 Dec;69(11):722-724.
- (63) West NX, Joiner A. Enamel mineral loss. *J Dent* 2014 Jun;42 Suppl 1:S2-11.

- (64) Shellis RP, Wilson RM. Apparent solubility distributions of hydroxyapatite and enamel apatite. *J Colloid Interface Sci* 2004 Oct 15;278(2):325-332.
- (65) Ilie O, van Turnhout AG, van Loosdrecht MC, Picioreanu C. Numerical modelling of tooth enamel subsurface lesion formation induced by dental plaque. *Caries Res* 2014;48(1):73-89.
- (66) Mazzoni A, Tjaderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of Dentin MMPs in Caries Progression and Bond Stability. *J Dent Res* 2015 Feb;94(2):241-251.
- (67) Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldini S, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, et al. Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J Dent Res* 2011 Apr;90(4):506-511.
- (68) Charadram N, Farahani RM, Harty D, Rathsam C, Swain MV, Hunter N. Regulation of reactionary dentin formation by odontoblasts in response to polymicrobial invasion of dentin matrix. *Bone* 2012 Jan;50(1):265-275.
- (69) Shellis RP. Formation of caries-like lesions in vitro on the root surfaces of human teeth in solutions simulating plaque fluid. *Caries Res* 2010;44(4):380-389.
- (70) Zhao W, Wang SZ, Fan MW, Chen Z, Yu SF. High-resolution electron microscopy of carious dissolution of enamel nano-crystals. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2003 Nov;38(6):408-410.
- (71) Gasga JR, Carbajal-de-la-Torre G, Bres E, Gil-Chavarria IM, Rodriguez-Hernandez AG, Garcia-Garcia R. STEM-HAADF electron microscopy analysis of the central dark line defect of human tooth enamel crystallites. *J Mater Sci Mater Med* 2008 Feb;19(2):877-882.
- (72) DARLING AI. Resistance of the enamel to dental caries. *J Dent Res* 1963 Jan-Feb;42(1)Pt2:488-496.
- (73) Ten Cate AR. Ten Cate's Oral Histology : development, structure, and function. 7th ed. ed. St. Louis (Missouri) : Mosby Elsevier,; 2008.
- (74) De Medeiros RC, Soares JD, De Sousa FB. Natural enamel caries in polarized light microscopy: differences in histopathological features derived from a qualitative versus a quantitative approach to interpret enamel birefringence. *J Microsc* 2012 May;246(2):177-189.
- (75) Kawasaki M, Okuda A. Stratification of the experimental incipient caries (polarized light microscopy and microradiography). *Nichidai Koko Kagaku* 1990 Mar;16(1):16-26.
- (76) Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:C35-8.
- (77) Carvalho JC. Caries process on occlusal surfaces: evolving evidence and understanding. *Caries Res* 2014;48(4):339-346.
- (78) Kuhnisch J, Galler M, Seitz M, Stich H, Lussi A, Hickel R, et al. Irregularities below the enamel-dentin junction may predispose for fissure caries. *J Dent Res* 2012 Nov;91(11):1066-1070.
- (79) Zavgorodniy AV, Rohanizadeh R, Bulcock S, Swain MV. Ultrastructural observations and growth of occluding crystals in carious dentine. *Acta Biomater* 2008 Sep;4(5):1427-1439.
- (80) Lee YL, Liu J, Clarkson BH, Lin CP, Godovikova V, Ritchie HH. Dentin-pulp complex responses to carious lesions. *Caries Res* 2006;40(3):256-264.
- (81) Paula-Silva FW, Ghosh A, Silva LA, Kapila YL. TNF-alpha promotes an odontoblastic phenotype in dental pulp cells. *J Dent Res* 2009 Apr;88(4):339-344.
- (82) Lynch RJ, Ten Cate JM. The effect of adjacent dentine blocks on the demineralisation and remineralisation of enamel in vitro. *Caries Res* 2006;40(1):38-42.
- (83) Chen L, Qin B, Du M, Zhong H, Xu Q, Li Y, et al. Extensive description and comparison of human supra-gingival microbiome in root caries and health. *PLoS One* 2015 Feb 6;10(2):e0117064.
- (84) Schuur A, Schuur A. Caries. Pathology of the Hard Dental Tissues: John Wiley & Sons, Ltd,; 2012. p. 121-155.
- (85) Pitts NB. Implementation. Improving caries detection, assessment, diagnosis and monitoring. *Monogr Oral Sci* 2009;21:199-208.
- (86) Baelum V. What is an appropriate caries diagnosis? *Acta Odontol Scand* 2010 Mar;68(2):65-79.
- (87) Longbottom CL, Huysmans MC, Pitts NB, Fontana M. Glossary of key terms. *Monogr Oral Sci* 2009;21:209-216.
- (88) Ekstrand KR, Zero DT, Martignon S, Pitts NB. Lesion activity assessment. *Monogr Oral Sci* 2009;21:63-90.
- (89) Huysmans MC, Longbottom C. The challenges of validating diagnostic methods and selecting appropriate gold standards. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:C48-52.
- (90) García García JA. Metodología de la investigación bioestadística y bioinformática en ciencias médicas y de la salud. 2ª ed. ed. Mexico : McGraw Hill,; 2014.
- (91) Knottnerus JA. The Evidence base of clinical diagnosis. London : BMJ Books,; 2002.
- (92) Kidd EA, Banerjee A, Ferrier S, Longbottom C, Nugent Z. Relationships between a clinical-visual scoring system and two histological techniques: a laboratory study on occlusal and approximal carious lesions. *Caries Res* 2003 Mar-Apr;37(2):125-129.
- (93) Ekstrand KR, Luna LE, Promisiero L, Cortes A, Cuevas S, Reyes JF, et al. The reliability and accuracy of two methods for proximal caries detection and depth on directly visible proximal surfaces: an in vitro study. *Caries Res* 2011;45(2):93-99.
- (94) Jablonski-Momeni A, Stachniss V, Ricketts DN, Heinzl-Gutenbrunner M, Pieper K. Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for detection of occlusal caries in vitro. *Caries Res* 2008;42(2):79-87.

- (95) Mitropoulos P, Rahiotis C, Stamatakis H, Kakaboura A. Diagnostic performance of the visual caries classification system ICDAS II versus radiography and micro-computed tomography for proximal caries detection: an in vitro study. *J Dent* 2010 Nov;38(11):859-867.
- (96) Huang TT, Jones AS, He LH, Darendeliler MA, Swain MV. Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography. *J Dent* 2007 Sep;35(9):737-743.
- (97) Ismail AI. Visual and visuo-tactile detection of dental caries. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:C56-66.
- (98) Pretty IA. Caries detection and diagnosis: novel technologies. *J Dent* 2006 Nov;34(10):727-739.
- (99) Twetman S, Axelsson S, Dahlen G, Espelid I, Mejare I, Norlund A, et al. Adjunct methods for caries detection: a systematic review of literature. *Acta Odontol Scand* 2013 May-Jul;71(3-4):388-397.
- (100) Pretty IA, Ellwood RP. The caries continuum: opportunities to detect, treat and monitor the re-mineralization of early caries lesions. *J Dent* 2013 Aug;41 Suppl 2:S12-21.
- (101) Bader JD, Shugars DA, Bonito AJ. Systematic reviews of selected dental caries diagnostic and management methods. *J Dent Educ* 2001 Oct;65(10):960-968.
- (102) Gimenez T, Piovesan C, Braga MM, Raggio DP, Deery C, Ricketts DN, et al. Clinical relevance of studies on the accuracy of visual inspection for detecting caries lesions: a systematic review. *Caries Res* 2015;49(2):91-98.
- (103) ICDAS Foundation website. Available at: <https://www.icdas.org/home>. Accessed Mar/13, 2015.
- (104) Pitts N. "ICDAS"--an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. *Community Dent Health* 2004 Sep;21(3):193-198.
- (105) International Caries Detection and Assessment System Coordinating Committee - Rationale and Evidence for the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II) - Reviewed September 2011 (unchanged from 2005). ICDAS Foundation Website downloads page. Available at: <http://www.icdas.org/downloads>. Accessed Mar/15, 2015.
- (106) Criteria Manual - International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). Revised in December and July 2009 (Bogota, Colombia and Budapest, Hungary) – from a Workshop held in Baltimore, Maryland, March 12th-14th 2005. ICDAS Foundation Website downloads page. Available at: <http://www.icdas.org/downloads>. Accessed Mar/15, 2015.
- (107) Shivakumar K, Prasad S, Chandu G. International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries. *J Conserv Dent* 2009 Jan;12(1):10-16.
- (108) A 90-minute e-learning program developed to support training in the use of ICDAS. Available free for download in English, Spanish, German and Portuguese. ICDAS Foundation E-Learning page at: <http://www.icdas.org/icdas-e-learning-course>. Accessed Mar/15, 2015.
- (109) PowerPoint Training Pack (52 slides) - ICDAS Criteria For Detecting Coronal Caries. (2005). ICDAS Foundation Website downloads page. Available at: <http://www.icdas.org/downloads>. Accessed Mar/15, 2015.
- (110) Pitts NB, Ekstrand KR, ICDAS Foundation. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and its International Caries Classification and Management System (ICCMS) - methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2013 Feb;41(1):e41-52.
- (111) Iranzo-Cortes JE, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM. Caries diagnosis: agreement between WHO and ICDAS II criteria in epidemiological surveys. *Community Dent Health* 2013 Jun;30(2):108-111.
- (112) Braga MM, Oliveira LB, Bonini GA, Bonecker M, Mendes FM. Feasibility of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS-II) in epidemiological surveys and comparability with standard World Health Organization criteria. *Caries Res* 2009;43(4):245-249.
- (113) Bonner BC, Bourgeois DM, Douglas GV, Chan K, Pitts NB. The feasibility of data collection in dental practices, using codes for the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS), to allow European general dental practitioners to monitor dental caries at local, national, and international levels. *Prim Dent Care* 2011 Apr;18(2):83-90.
- (114) Almerich-Silla JM, Boronat-Ferrer T, Montiel-Company JM, Iranzo-Cortes JE. Caries prevalence in children from Valencia (Spain) using ICDAS II criteria, 2010. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2014 Nov 1;19(6):e574-80.
- (115) Schulte AG, Pitts NB, Huysmans MC, Splieth C, Buchalla W. European Core Curriculum in Cariology for undergraduate dental students. *Eur J Dent Educ* 2011 Nov;15 Suppl 1:9-17.
- (116) El-Damanny HM, Fakhruddin KS, Awad MA. Effectiveness of teaching International Caries Detection and Assessment System II and its e-learning program to freshman dental students on occlusal caries detection. *Eur J Dent* 2014 Oct;8(4):493-497.
- (117) Rodrigues JA, de Oliveira RS, Hug I, Neuhaus K, Lussi A. Performance of experienced dentists in Switzerland after an e-learning program on ICDAS occlusal caries detection. *J Dent Educ* 2013 Aug;77(8):1086-1091.
- (118) Schwendicke F, Stolpe M, Meyer-Lueckel H, Paris S. Detecting and treating occlusal caries lesions: a cost-effectiveness analysis. *J Dent Res* 2015 Feb;94(2):272-280.
- (119) Shoaib L, Deery C, Ricketts DN, Nugent ZJ. Validity and reproducibility of ICDAS II in primary teeth. *Caries Res* 2009;43(6):442-448.
- (120) Diniz MB, Rodrigues JA, Hug I, Cordeiro Rde C, Lussi A. Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for occlusal caries detection. *Community Dent Oral Epidemiol* 2009 Oct;37(5):399-404.
- (121) Braga MM, Mendes FM, Martignon S, Ricketts DN, Ekstrand KR. In vitro comparison of Nyvad's system and ICDAS-II with Lesion Activity Assessment for evaluation of severity and activity of occlusal caries lesions in primary teeth. *Caries Res* 2009;43(5):405-412.

- (122) Braga MM, Ekstrand KR, Martignon S, Imparato JC, Ricketts DN, Mendes FM. Clinical performance of two visual scoring systems in detecting and assessing activity status of occlusal caries in primary teeth. *Caries Res* 2010;44(3):300-308.
- (123) Diniz MB, Lima LM, Eckert G, Zandona AG, Cordeiro RC, Pinto LS. In vitro evaluation of ICDAS and radiographic examination of occlusal surfaces and their association with treatment decisions. *Oper Dent* 2011 Mar-Apr;36(2):133-142.
- (124) Neuhaus KW, Rodrigues JA, Hug I, Stich H, Lussi A. Performance of laser fluorescence devices, visual and radiographic examination for the detection of occlusal caries in primary molars. *Clin Oral Investig* 2011 Oct;15(5):635-641.
- (125) Mitropoulos P, Rahiotis C, Kakaboura A, Vougiouklakis G. The impact of magnification on occlusal caries diagnosis with implementation of the ICDAS II criteria. *Caries Res* 2012;46(1):82-86.
- (126) Novaes TF, Matos R, Gimenez T, Braga MM, DE Benedetto MS, Mendes FM. Performance of fluorescence-based and conventional methods of occlusal caries detection in primary molars - an in vitro study. *Int J Paediatr Dent* 2012 Nov;22(6):459-466.
- (127) Soviero VM, Leal SC, Silva RC, Azevedo RB. Validity of MicroCT for in vitro detection of proximal carious lesions in primary molars. *J Dent* 2012 Jan;40(1):35-40.
- (128) Gomez J, Zakian C, Salsone S, Pinto SC, Taylor A, Pretty IA, et al. In vitro performance of different methods in detecting occlusal caries lesions. *J Dent* 2013 Feb;41(2):180-186.
- (129) Souza JF, Boldieri T, Diniz MB, Rodrigues JA, Lussi A, Cordeiro RC. Traditional and novel methods for occlusal caries detection: performance on primary teeth. *Lasers Med Sci* 2013 Jan;28(1):287-295.
- (130) Teo TK, Ashley PF, Louca C. An in vivo and in vitro investigation of the use of ICDAS, DIAGNOdent pen and CarieScan PRO for the detection and assessment of occlusal caries in primary molar teeth. *Clin Oral Investig* 2014 Apr;18(3):737-744.
- (131) Sisodia N, Manjunath MK. Impact of low level magnification on incipient occlusal caries diagnosis and treatment decision making. *J Clin Diagn Res* 2014 Aug;8(8):ZC32-5.
- (132) Holtzman JS, Ballantine J, Fontana M, Wang A, Calantog A, Benavides E, et al. Assessment of early occlusal caries pre- and post-sealant application--an imaging approach. *Lasers Surg Med* 2014 Aug;46(6):499-507.
- (133) Neuhaus KW, Ciucchi P, Rodrigues JA, Hug I, Emerich M, Lussi A. Diagnostic performance of a new red light LED device for approximal caries detection. *Lasers Med Sci* 2014 Jun 7.
- (134) Ko HY, Kang SM, Kim HE, Kwon HK, Kim BI. Validation of quantitative light-induced fluorescence-digital (QLF-D) for the detection of approximal caries in vitro. *J Dent* 2015 Feb 24.
- (135) Mejare I, Kallest IC, Stenlund H. Incidence and progression of approximal caries from 11 to 22 years of age in Sweden: A prospective radiographic study. *Caries Res* 1999;33(2):93-100.
- (136) Ekstrand KR, Ricketts DN, Kidd EA. Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of the occlusal surface: an in vitro examination. *Caries Res* 1997;31(3):224-231.
- (137) Chimento Küstner E. Mosby, diccionario de odontología. 2ª ed. ed. Amsterdam, Barcelona, [etc.]: Elsevier; 2009.
- (138) Gupta PV. Diccionario Dental de Jaypee. Panamá : Jaypee-Highlights,; 2013.
- (139) Pitts NB, Fyffe HE. The effect of varying diagnostic thresholds upon clinical caries data for a low prevalence group. *J Dent Res* 1988 Mar;67(3):592-596.
- (140) Fyffe HE, Deery C, Nugent ZJ, Nuttall NM, Pitts NB. In vitro validity of the Dundee Selectable Threshold Method for caries diagnosis (DSTM). *Community Dent Oral Epidemiol* 2000 Feb;28(1):52-58.
- (141) Carranza KM. Asociación entre el estado nutricional, pH salival y caries dental según ICDAS-II en niños de 6 a 12 años de la I.E. Pablo Chávez Villaverde del distrito del Sauce, región San Martín, 2011. Tesis maestría. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2011.
- (142) Carranza KM. Validación histológica *in vitro* de ICDAS-II asociado a radiografías convencionales y digitales para la detección de lesiones de caries dental. Tesis máster. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 2015.
- (143) Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977 Mar;33(1):159-174.
- (144) Fleiss IL (1981) Statistical methods for rates and proportions, 2nd edn. New York, Wiley, pp 212-225.
- (145) Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL. User's guide to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients?. *JAMA* 1994;271:704.
- (146) Melo Alminaña M. Estudio "*in vivo*" sobre diferentes métodos para el diagnóstico de caries de fosas y fisuras [tesis doctoral]. Madrid: Universidad de Valencia; 2013.
- (147) Jablonski-Momeni A, Ricketts DN, Weber K, Ziomek O, Heinzel-Gutenbrunner M, Schipper HM, et al. Effect of different time intervals between examinations on the reproducibility of ICDAS-II for occlusal caries. *Caries Res* 2010;44(3):267-271.
- (148) Rodrigues JA, Hug I, Diniz MB, Lussi A. Performance of fluorescence methods, radiographic examination and ICDAS II on occlusal surfaces in vitro. *Caries Res* 2008;42(4):297-304.
- (149) Achilleos EE, Rahiotis C, Kakaboura A, Vougiouklakis G. Evaluation of a new fluorescence-based device in the detection of incipient occlusal caries lesions. *Lasers Med Sci* 2013 Jan;28(1):193-201.
- (150) Downer MC. Concurrent validity of an epidemiological diagnostic system for caries with the histological appearance of extracted teeth as validating criterion. *Caries Res* 1975;9(3):231-246.
- (151) Wenzel A. Bitewing and digital bitewing radiography for detection of caries lesions. *J Dent Res* 2004;83 Spec No C:C72-5.

ANEXOS

ANEXO 1



Informe Dictamen Favorable
Trabajo Fin de Grado

C.P. - C.I. 15/276-E TFG

22 de mayo de 2015

CEIC Hospital Clínico San Carlos

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el Trabajo Fin de Grado titulado *"Validación histológica in vitro de ICDAS-II y MC-T para la detección de lesiones de caries proximales y oclusales"* con código interno nº 15/276-E TFG del que es autora Dña **Julissa Amparo Dulanto Vargasel** del Departamento de Estomatología IV, Profilaxis, Odontopediatría y Ortodoncia. Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, siendo la Directora la Dra. Gloria Saavedra Marbán, ha sido estudiado por este Comité, no habiéndose realizado objeción alguna al mismo.

realizado objeción alguna al mismo.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho trabajo.

Lo que firmo en Madrid, a 22 de mayo de 2015

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

ANEXO 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EXAMINADOR:

FECHA: / /

SISTEMA DE DETECCIÓN: ICDAS II ☐Micro-CT ☐HISTOLÓGICO ☐

CÓDIGO	SUPERFICIE DE DETECCIÓN		
	OCLUSAL	MESIAL	DISTAL
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			